

**(19) Japan Patent Office (JP)**

**(12) Publication of Patent Application (A)**

**(11) Publication Number of Patent Application: No. JP-A-2003-28864 (P2003-28864A)**

**(43) Date of Publication of Application: January 29, 2003**

**(54) [Title of the Invention] SUBSTRATE FOR DNA CHIP, PRODUCING METHOD THEREFOR AND PRODUCING METHOD FOR DNA CHIP**

**(57) [Abstract]**

**[PROBLEM]**

To provide a substrate for a DNA chip, capable of providing a DNA chip with a high yield and allowing secure adhesion of DNA probes, a producing method therefor, and a producing method for a DNA chip utilizing such substrate.

**[MEANS FOR SOLVING THE PROBLEM]**

A substrate for a DNA chip, having an array of plural hydrophilic micro areas on a base plate having a surface which is hydrophobic and becomes hydrophilic by an action of light or heat. Also a producing method of a DNA chip for causing the aforementioned hydrophilic micro area to accept a DNA probe. In particular, a producing method of a DNA chip for causing a liquid droplet containing a DNA probe to be accepted by an ink jet method.

**[Claims]**

**[Claim 1]**

A substrate for a DNA chip characterized in including an array of plural hydrophilic micro areas on a base plate having a surface which is hydrophobic and becomes hydrophilic by an action of light or heat, thereby constituting cell areas for accepting DNA probes.

**[Claim 2]**

A substrate for a DNA chip according to claim 1, characterized in that the hydrophilic micro area has a contact angle to water which is 30° or less and which is lower by at least 40° than a contact angle to water of a hydrophobic surface surrounding the hydrophilic micro area.

**[Claim 3]**

A substrate for a DNA chip according to claim 1 or 2, characterized in that the surface is constituted of at least a metal oxide selected from  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{RTiO}_3$  (R being an alkali earth metal atom),  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$  (A being a hydrogen atom or an alkali metal atom; B being an alkali earth metal atom or a lead atom; C being a rare earth atom; D being a metal atom of an element belonging to the group 5A of the periodic table; E being a metal atom of an element belonging to the group 4A of the periodic table; and x being an arbitrary number of 0 - 2),  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$  and iron oxide represented by  $\text{FeO}_y$  ( $y = 1 - 1.5$ ).

**[Claim 4]**

A method for producing a substrate for a DNA chip characterized by applying an irradiation of an actinic light or heat to a hydrophobic surface of a base plate, thereby forming an array of plural hydrophilic micro areas of predetermined size and shape on the surface.

**[Claim 5]**

**A method for producing a substrate for a DNA chip according to claim 4, characterized in that the formation of the hydrophilic micro area is executed by any one of an irradiation of an actinic light through a photomask positioned between a light source and the substrate, a scanning exposure executed by an intermittent emission of a laser beam, a heat application by a scanning operation with a thermal head, and an irradiation of a photothermal converting radiation.**

**[Claim 6]**

**A method for producing a substrate for a DNA chip according to claim 4 or 5, characterized in treating a surface of the base plate with a hydrophobic organic compound and then applying a radiation of an actinic light or a heat thereby forming the hydrophilic micro area.**

**[Claim 7]**

**A method for producing a DNA chip characterized in employing a substrate for a DNA chip including an array of plural hydrophilic micro areas on a base plate having a surface which is hydrophobic and becomes hydrophilic by an action of light or heat, and causing the hydrophilic micro area to accept a DNA probe.**

**[Claim 8]**

**A method for producing a DNA chip according to claim 7, characterized in causing a liquid droplet containing a DNA probe to be accepted by an array of plural hydrophilic micro areas on a base substrate by an ink jet method.**

**[Detailed Description of the Invention]**

**[0001]**

**[Technical Field to which the Invention Belongs]**

**The present invention relates to a substrate for a DNA chip in which a plurality**

of oligonucleotides are fixed in an array on a solid surface, a producing method therefor, and a DNA chip utilizing such substrate.

[0002]

[Prior Technology]

For monitoring a mode of expression of genes, there is known a method utilizing a DNA chip. A DNA chip is a device bearing an oligonucleotide matrix by fixing a plurality of oligonucleotides (also called DNA probes) corresponding to various genes in an array on a solid surface, and usually bears several thousand or more than ten thousand DNA probes on a silicon chip of 1 cm<sup>2</sup>. In a gene testing method utilizing the DNA chip, a cDNA (complementary DNA) of a sample mRNA (messenger RNA) is synthesized by a PCR (polymerase chain reaction), then segmented and a fluorescent marker is attached to each segment to form a marked segment. Such marked segment is contacted with the DNA chip to cause a hybridization with an oligonucleotide fixed on the DNA chip. The marked segment is supported by an oligonucleotide with a complementary sequence, and the marked segment in excess is eliminated by a rinsing operation. Then amounts and positions of the supported marked segments are detected by a fluorescent microscope to identify the types of the corresponding oligonucleotides. This method, thus capable of analyzing the sequence of the DNA segment, is useful for gene-related researches and gene analyses, and it is already shown that a mutation in a cancer gene can be detected by this method.

[0003]

A production method of the DNA chip is generally classified into following three types. In a first method, plural linkers modified with a photochemically eliminable protective group are arrayed on a solid surface by a coupling across an amino group. Then, utilizing a photolithographic technology employed in a semiconductor

manufacture, an optical irradiation is conducted through a mask allowing to irradiate a fixed position of a desired linker, thereby eliminating the protective group. Then a monomer having a photochemically eliminable protective group is introduced and a first coupling reaction is executed. In this manner the oligonucleotide is extended only in such portion. A desired oligonucleotide matrix is formed by repeating the photolithographic step and the monomer introduction.

[0004]

In a second method, an oligonucleotide to be fixed is prepared in advance, then is dropped by a small amount on a solid surface such as a glass or a polymer film, and is fixed in such position by a covalent bonding. For example, by introducing an isothiocyanate group on the solid surface, and by forming an amino group at an end of the oligonucleotide, it can be easily fixed by a covalent bond in a fixed position of isothiocyanate group.

[0005]

In a third method, an oligonucleotide to be fixed is prepared in advance, then is dropped by a small amount on a solid surface such as a glass or a polymer film, and is fixed in such position by adsorption.

[0006]

However, any of these DNA chip producing methods requires a long time for producing a DNA chip, and results in a high production cost. Among these methods, the third method is relatively inexpensive. However, the fixation of the oligonucleotide by adsorption in the dropped position is generally insecure, and the liquid droplet tends to show a spreading. Therefore, for example by a lateral diffusion or blotting at the transfer, there result a danger of a reproduction error such as a contamination of the PCR reaction liquid between adjacent cells on the DNA chip and a risk of a lowered

productivity. Consequently, there is desired a DNA chip producing method with a high precision in the DNA chip and a high yield.

[0007]

[Problems to be Solved by the Invention]

The present invention has been made in consideration of the aforementioned drawbacks, and has an object to provide a substrate for a DNA chip capable of providing a DNA chip enabling a secure attachment of a DNA probe, a producing method therefor, and a producing method for a DNA chip utilizing such substrate.

[0008]

[Means for Solving the Problems]

The present inventors, based on an understanding that, in the aforementioned third method of dropping the DNA probe by a small amount on the substrate, the prior technology is defective in not having a protection against a diffusion blotting of the dropped liquid droplet along the surface of the substrate, has made an intensive investigation for such protection and have reached the present invention. More specifically, the present invention is constituted as follows.

[0009]

1. A substrate for a DNA chip characterized in including an array of plural hydrophilic micro areas on a base plate having a surface which is hydrophobic and becomes hydrophilic by an action of light or heat, thereby constituting cell areas for accepting DNA probes.

[0010]

2. A substrate for a DNA chip described in 1, characterized in that the hydrophilic micro area has a contact angle to water which is 30° or less and which is lower by at least 40° than a contact angle to water of a hydrophobic surface surrounding the hydrophilic

micro area.

[0011]

3. A substrate for a DNA chip described in 1 or 2, characterized in that the surface is constituted of at least a metal oxide selected from  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{RTiO}_3$  (R being an alkali earth metal atom),  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$  (A being a hydrogen atom or an alkali metal atom; B being an alkali earth metal atom or a lead atom; C being a rare earth atom; D being a metal atom of an element belonging to the group 5A of the periodic table; E being a metal atom of an element belonging to the group 4A of the periodic table; and x being an arbitrary number of 0 - 2),  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$  and iron oxide represented by  $\text{FeO}_y$  ( $y = 1 - 1.5$ ).

[0012]

4. A method for producing a substrate for a DNA chip characterized by applying an irradiation of an actinic light or heat to a hydrophobic surface of a base plate, thereby forming an array of plural hydrophilic micro areas of predetermined size and shape on the surface.

[0013]

5. A method for producing a substrate for a DNA chip described in claim 4, characterized in that the formation of the hydrophilic micro area is executed by any one of an irradiation of an actinic light through a photomask positioned between a light source and the substrate, a scanning exposure executed by an intermittent emission of a laser beam, a heat application by a scanning operation with a thermal head, and an irradiation of a photothermal converting radiation.

[0014]

6. A method for producing a substrate for a DNA chip described in claim 4 or 5, characterized in treating a surface of the base plate with a hydrophobic organic

compound and then applying a radiation of an actinic light or a heat thereby forming the hydrophilic micro area.

[0015]

7. A method for producing a DNA chip characterized in employing a substrate for a DNA chip including an array of plural hydrophilic micro areas on a base plate having a surface which is hydrophobic and becomes hydrophilic by an action of light or heat, and causing the hydrophilic micro area to accept a DNA probe.

[0016]

8. A method for producing a DNA chip described in claim 7, characterized in causing a liquid droplet containing a DNA probe to be accepted by an array of plural hydrophilic micro areas on a base substrate by an ink jet method.

[0017]

The present invention is constituted, as described in 1 to 8, of inventions of a DNA chip substrate having the aforementioned functions, a producing method therefor, and a producing method for a DNA chip utilizing such substrate. In the following description, a micro area (micro section) to which a DNA probe is attached on a DNA chip will be called a cell, a hydrophilic micro area for forming a cell by accepting a DNA probe, on the substrate for producing a DNA chip, will be called a cell area, and a plate material constituting a support member for the substrate will be called a base plate.

[0018]

A first feature of the present invention is to prepare, on a DNA chip substrate, a micro section by a difference in polarity, by rendering in advance each micro area or each cell area for accepting a DNA probe more hydrophilic than a surrounding area. By accepting a liquid droplet of a DNA probe in each micro section on such micro sectioned substrate, the surrounding hydrophobic area repels the liquid droplet to



prevent a transfer error by a blotting (lateral diffusion) of the liquid droplet at the transfer operation, also increases a tolerance for the positional aberration of the liquid droplet at the deposition thereof, thereby improving accuracy and yield of the transfer. Therefore the DNA chip can be produced with a high yield and a high precision, whereby the object of the present invention can be attained.

[0019]

A second feature of the present invention is, for producing a DNA chip substrate provided with a micro section based on the aforementioned difference in polarity, to employ a base plate constituted of a photocatalytic metal oxide and/or a metal oxide showing a change in polarity by a heat application (also called heat responsiveness) or a base plate having such metal oxide at least on a surface. A photocatalytic metal oxide changes polarity, upon irradiated with an actinic light, from hydrophobic to hydrophilic. Therefore, an area of the substrate for forming a cell of the DNA chip, or a cell area in the aforementioned definition can be easily rendered hydrophilic by an imagewise irradiation with the actinic light corresponding to the cell arrangement on the surface of the base plate. Also a heat responsive metal oxide changes polarity from hydrophobic to hydrophilic upon heated at least to a specified temperature (called a high-temperature hydrophilicity expressing temperature), so that a surface area of the base plate for constituting a cell area of the substrate can be changed to a hydrophilic area by a selective heating with a thermal head or a photothermal converting radiation.

[0020]

In a particularly preferable embodiment of the present invention, an adhesion of a liquid droplet to each cell area is achieved by an ink jet method. More specifically, in an ink jet printer, an ink is replaced by a liquid containing a DNA probe, and a liquid droplet containing the DNA probe is emitted to each cell area, thereby achieving a

prompt and easy attaching of the DNA probe and enabling production of a precise DNA chip without liquid blotting.

[0021]

In the present invention, a hydrophilicity of a cell area means a hydrophilicity of a level capable of accepting a liquid droplet of the DNA probe, and more specifically the hydrophilic area has a contact angle to water of 30° or less. Also a hydrophobicity of the hydrophobic area surrounding the cell area means a hydrophobicity of a level capable of substantially avoiding a diffusion of the DNA probe of the hydrophilic area into the hydrophobic area, and, in case the contact angles to water of the cell area and the surrounding hydrophobic area have a difference of 40° or larger, the base plate for the substrate of the invention usually need not be subjected to a hydrophobic treatment.

[0022]

However, in order to further improve the accuracy of transfer, an evident effect can be obtained by a method of intensifying the hydrophobicity of the surface of the base plate by contacting the base plate, prior to the formation of the cell area thereon, with a hydrophobic organic compound. Even when the hydrophobicity of the surface of the base plate is intensified in advance, a cell formation thereafter can be executed effectively so that the hydrophilicity of the cell area is substantially not influenced. The hydrophobic organic compound is preferably a gas or a liquid, and a gas is superior in achieving a sufficient contact.

[0023]

#### [Embodiments of the Invention]

##### I. Preparation method of substrate

(Metal oxide)

The DNA chip substrate of the invention is produced, in order that a micro

section based on a difference of polarity can be provided for forming a cell area, from a base plate constituted of a photocatalytic metal oxide and/or a metal oxide showing a polarity change by a heat application (also called heat responsive metal oxide), or a base plate such as a glass, a metal plate or a plastic plate having such metal oxide on a surface. The photocatalytic metal oxide means a metal oxide showing a change in hydrophilic/hydrophobic polarity in response to a light irradiation, and a light inducing a polarity change is called an actinic light. Also a metal oxide showing a polarity change by a heat application, namely a heat responsive metal oxide, is relatively frequently found in photocatalytic metal oxides, but need not necessarily be photocatalytic. Such metal oxide is also found in ceramics or semiconductors. A substance showing a photocatalytic ability can be found in an intrinsic semiconductor in which a base level is close to a conductive band and a virtual semiconductor dependent on an impurity level such as vanadium oxide or copper oxide.

[0024]

The metal oxide having the photocatalytic ability for use in the invention can be found in metal oxides of various forms including a single metal oxide and a complex metal oxide, and in case of the latter, such property can be found in any of a solid solution, a mixed crystal, a polycrystal, an amorphous solid solution, and a mixture of metal oxide fine crystals. The metal oxide having such characteristics can be empirically found in oxides of metal elements belonging to 3rd - 6th cycles of the periodic table excluding groups 0 and VIIA (halogen elements). Following photocatalytic metal oxides are also heat responsive, but certain iron oxides have heat responsiveness though they are not photocatalytic. The preparation of the base plate can be executed in the same manner for both types except for the formation of the micro sections, so that both will be collectively explained. The aforementioned metal and metal oxide have a

solubility in water, in consideration of the usability of the DNA chip, is 10 mg or less in 100 ml of water, preferably 5 mg or less and more preferably 1 mg or less.

[0025]

Among the metal oxides having the photocatalytic property, there are preferred titanium oxide and zinc oxide which will be explained at first. These materials can both be utilized as the base plate for preparing the DNA chip substrate of the invention. In particular, titanium oxide is preferable in sensitivity (namely sensitivity of an optical change of surface properties) etc. Titanium oxide can be produced by any known method such as a sulfuric acid calcining of ilmenite or titanium slag or a thermal chlorination followed by an oxidation with oxygen.

[0026]

For forming a layer containing titanium oxide or zinc oxide on the surface of the base plate, there may be employed any known method such as (1) a method of coating a dispersion of titanium oxide fine crystals or zinc oxide fine crystals on the base plate, (2) a method of calcining after coating thereby reducing or eliminating a binder, (3) a method of forming a titanium oxide (or zinc oxide) layer on the base plate for example by evaporation, sputtering, ion plating or CVD, or (4) a method of coating an organic titanium compound such as titanium butoxide on the base plate and applying an oxidative calcining to form a titanium oxide layer. In the invention, a titanium oxide layer by vacuum evaporation or sputtering is particularly preferable.

[0027]

The aforementioned method of coating titanium oxide fine crystals in (1) or (2) includes, more specifically, a method of coating a dispersion of amorphous titanium oxide fine crystals and calcining to form a crystalline titanium oxide layer of anatase or rutile type, a method of coating a mixed dispersion of titanium oxide and silicon oxide thereby

forming a surface layer, a method of coating a mixture of titanium oxide and organosiloxane or the like to obtain a titanium oxide layer coupled with the substrate through a siloxane bond, and a method of coating an oxide layer in which an oxide is dispersed in a polymer binder compatible with the oxide and then executing a calcination to eliminate the organic component. As a binder for the oxide particles, there can be employed a polymer that has a dispersibility to the titanium oxide fine particles and that is eliminable by calcining at a relatively low temperature. The binder is preferably a hydrophobic binder for example polyalkylene such as polyethylene, polybutadiene, a polyacrylate ester, a polymethacrylate ester, polyvinyl acetate, polyvinyl formate, polyethylene terephthalate, polyethylene naphthalate, polyvinyl alcohol, partially saponified polyvinyl alcohol, or polystyrene, and such resins may be employed as a mixture.

[0028]

The vacuum evaporation of titanium oxide by the aforementioned method (3) can be executed, for example, by placing a metallic titanium on an evaporation heat source in a vacuum evaporation apparatus and evaporating the metallic titanium under a total gas pressure of  $10^{-2}$  Pa with an oxygen partial pressure of 30 - 95 %, whereby a thin evaporated film of titanium oxide is formed on an evaporated surface. Also in case of sputtering, a titanium metal target is set in a sputtering apparatus, then a gas pressure is regulated at  $5 \times 10^{-1}$  Pa so as to obtain an Ar/O<sub>2</sub> ratio of 60/40 (molar ratio), and a sputtering is executed by applying an RF power of 200 W thereby forming a titanium oxide film on the base plate.

[0029]

On the other hand, in case of employing a zinc oxide layer in the invention, such zinc oxide layer may be prepared by any known method. Particularly there is preferred

a method of anodizing a surface of a zinc metal plate to form an oxide film, or a method of forming a zinc oxide film by vacuum evaporation, sputtering, ion plating or CVD. An evaporated film of zinc oxide can be obtained, as in the aforementioned evaporation of titanium oxide, by a method of evaporating metallic zinc in the presence of oxygen gas, or a method of forming a metallic zinc film in the absence of oxygen and then executing oxidation by elevating the temperature to about 700°C in the air. Also it can be obtained by heating a zinc oxalate coated layer or a thin zinc selenide layer in a oxidizing gas flow.

[0030]

Titanium oxide can be utilized in any crystalline form, but an anatase type is preferable because of a high sensitivity. It is known that an anatase type crystal can be obtained by selecting a calcining condition in a calcining process for obtaining titanium oxide. In such case, titanium oxide of amorphous state or rutile type may also be present, but the anatase type crystal is present by 40 % or higher, preferably 60 % or higher, because of the aforementioned reason. In a layer containing titanium oxide or zinc oxide as a principal component, a volumic ratio of titanium oxide or zinc oxide is 30 to 100 %, preferably the oxide represents 50 % or more, and more preferably the oxide constitutes a continuous layer, namely represents substantially 100 %. However, as the hydrophilic/oleophilic property change on the surface is not so much influenced by a purity, unlike the case of employing zinc oxide in an electrophotographic photosensitive layer, it is unnecessary to further purify a substance having a purity close to 100 % (for example 98 %). This will be understood from a fact that the physical property utilized in the invention is a hydrophilic/oleophilic property change on the surface, namely a change of an interfacial physical property, which is not related with an electroconductivity.

[0031]

However, a doping with a certain metal may be effective for promoting a property of changing a surface hydrophilicity by an action of light, and a doping with a metal of a smaller ionization tendency is suitable for this purpose and Pt, Pd or Au is preferred for doping. Also such preferred metals may be doped in plural kinds. In case of employing a doping, an amount thereof is 5 mol. % or less with respect to a metal component in zinc oxide or titanium oxide.

[0032]

In the following there will be explained a titanate metal salt represented by a general formula  $\text{RTiO}_3$ , which is another compound employable in the invention. In the general formula  $\text{RTiO}_3$ , R represents a metal atom belonging to the alkali earth elements of the periodic table such as magnesium, calcium, strontium, barium or beryllium, among which strontium and barium are preferred. Also two or more alkali earth metal atoms may be present together as long as their sum stoichiometrically matches the aforementioned formula.

[0033]

In the following there will be explained a compound represented by  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$ . In this general formula, A is a monovalent atom selected from a hydrogen atom and alkali metal atoms such as sodium, potassium, rubidium, cesium and lithium, and two or more atoms may be present together as long as their sum stoichiometrically matches the aforementioned formula. B is an alkali earth metal atom as defined above for R or a lead atom, and two or more atoms may be present together as long as their sum stoichiometrically matches the aforementioned formula. C is a rare earth atom, preferably scandium, yttrium or an atom belonging to lanthanoid elements such as lanthanum, cerium, praseodymium, neodymium, holmium, europium,

gadolinium, terbium, thulium, ytterbium or lutetium, and two or more atoms may be present together as long as their sum stoichiometrically matches the aforementioned formula. D is at least an element selected from the group 5A of the periodic table, such as vanadium, niobium, or tantalum. Also two or more metal atoms of the group 5A may be present together as long as a stoichiometric relation is satisfied. E is a metal atom belonging to the group 4A such as titanium, zirconium or hafnium, and two or more metal atoms of the group 4A may be present together. x represents an arbitrary number of 0 - 2.

[0034]

For forming a thin film of  $\text{RTiO}_3$ , an aforementioned compound represented by the general formula  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ , or iron oxide represented by  $\text{FeO}_y$  ( $y = 1 - 1.5$ ), there can be employed methods mentioned above for forming a layer of titanium oxide or zinc oxide. More specifically, there can be employed any known method such as (1) a method of coating a dispersion of fine particles of the photocatalytic or heat responsive metal oxide mentioned above on the base plate, (2) a method of calcining after coating thereby reducing or eliminating a binder, (3) a method of forming an aforementioned oxide by various vacuum film forming methods, (4) a method of coating an organic compound such as an alcoholate of a metal element on the base plate, then executing a hydrolysis and an oxidative calcining to form a metal film of an appropriate thickness, or (5) a method of spraying, under heating, an aqueous solution of a hydrochlorate salt or a nitrate salt containing the aforementioned metal.

[0035]

For example for coating barium titanate fine crystals by the method (1) or (2), there may be employed a method of coating a mixed dispersion of barium titanate and silicon thereby forming a surface layer, or a method of coating a mixture of barium



titanate and organosiloxane or a monomer thereof. Also as explained for titanium oxide, it is possible to coat an oxide layer in which an oxide is dispersed in a polymer binder compatible with the oxide and then executing a calcination to obtain an oxide layer. Examples of the polymer preferred as the binder for the oxide particles are same as those explained for titanium oxide. This method allows to form a thin film, not only of barium titanate, but also of magnesium titanate, calcium titanate, strontium titanate or an intermolecular compound or a mixture thereof.

[0036]

It is similarly possible to coat fine particles of  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  by the coating method (1) or (2). The  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  fine particles can be obtained by finely crushing  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{La}_2\text{O}_3$ ,  $\text{NbO}_3$  and  $\text{TiO}_2$  in a corresponding stoichiometric ratio in a mortar, then calcining the mixture in a platinum crucible for 5 hours at  $130^\circ\text{C}$ , then cooling and crushing the mixture in a mortar to fine particles of several micrometers or less. The  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  particles are dispersed in a binder as in the aforementioned case of barium titanate and coated to obtain a thin film. This method is applicable not only to particles of  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  type but also to the aforementioned  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$  ( $0 \leq x \leq 2$ ) such as  $\text{HCa}_{1.5}\text{La}_{0.5}\text{Nb}_{2.5}\text{Ti}_{0.5}\text{O}_{10}$  or  $\text{HLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$ .

[0037]

For forming a photocatalytic or heat responsive metal oxide layer by the aforementioned (3) vacuum film forming method, there is generally employed a sputtering or a vacuum film formation. In the sputtering method, a single or complex oxide target is prepared in advance. For example, a crystalline film of barium titanate can be obtained by utilizing a barium titanate target, maintaining the base plate for evaporation at a temperature of  $450^\circ\text{C}$  or higher and executing an RF sputtering in an argon/oxygen mixed atmosphere. The crystallinity may be controlled by executing a post

annealing at 300 - 900°C, if necessary. This method is usable for thin film formation not only for the aforementioned  $\text{RTiO}_3$  (R being an alkali earth metal element) but also in a similar principle to other photocatalytic or heat responsive metal oxides, by regulating the substrate at a temperature optimum for controlling the crystallinity. For example, in case of forming a tin oxide film, a thin film of tin oxide crystal matching the invention can be obtained by an RF sputtering with a base plate temperature of 120°C in a mixed atmosphere of an argon/oxygen ratio of 50/50.

[0038]

The aforementioned method (4) utilizing metal alcoholate is also capable of forming a desired thin film without employing a binder. A barium titanate film can be formed by coating a mixed alcohol solution of barium ethoxide and titanium butoxide on a silicon substrate having  $\text{SiO}_2$  on the surface, then hydrolyzing the surface and executing a heating to 200°C or higher. This method is also usable for forming a thin film of  $\text{RTiO}_3$  (R being an alkali earth metal atom),  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$  (A, B, C, D and E respectively being defined above),  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ , or  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

[0039]

The aforementioned method (5) of forming a metal oxide film expressing a photocatalytic property is also capable of forming a thin film in a system not containing a binder. A  $\text{SnO}_2$  film can be formed by spraying a hydrochloric acid solution of  $\text{SnCl}_4$  onto a surface of a quartz or crystalline glass heated at 200°C or higher. Also this method is applicable for forming a thin film not only of  $\text{SnO}_2$  but also  $\text{AB}_{2-x}\text{C}_x\text{D}_{3-x}\text{E}_x\text{O}_{10}$  (A, B, C, D and E respectively being defined above),  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ , or  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

[0040]

A thickness of the metal oxide film is, in any of the aforementioned cases, desirably 0.1 - 10000 nm, and preferably 1 - 1000 nm. More preferably it is made 300

nm or less, in order to prevent a distortion in the optical interference. Also for sufficiently expressing a photocatalytic activating property, a thickness of 5 nm or larger is advantageous.

[0041]

In the aforementioned photocatalytic or heat responsive metal oxide layer utilizing a binder, the metal oxide represents a volumic ratio of 50 - 100 %, preferably 90 % or more and more preferably forms a continuous layer of oxide, namely substantially 100 %.

[0042]

(Micro section formation by polarity difference)

The DNA chip substrate of the invention is subjected to a micro section formation in such a manner that an area corresponding to each cell on the object DNA chip is adjusted to a hydrophilic property and such area constitutes a cell area surrounded by a hydrophobic area. Fig. 1 is a schematic view showing an arrangement of the hydrophilic areas on the base plate surface. Referring to Fig. 1, a substrate 11 is formed by a base plate 12 constituting a support member and cell areas 13 arranged on the surface thereof as hydrophilic micro areas. On the base plate 12, a cell 15 represented by a circle and bearing an attached DNA probe and a cell area 13 represented by a broken-lined circle on which a DNA probe is to be attached are shown and they are arranged on a hydrophobic area 14. Fig. 3 is merely a schematic illustration, and a shape of the cell area, a distribution density and an arrangement thereof are not limited to the example shown in Fig. 1. For forming micro sections on the base plate surface, there is employed a method of applying, to the base plate surface, an actinic light or a heat selectively to an area corresponding to each cell on the object DNA chip.

[0043]

<Micro section formation by actinic light irradiation>

A light source of the actinic light to be irradiated for forming a cell area on the base plate surface is a light source emitting a light of a wavelength within a photosensitive range of the photocatalytic metal compound, namely a light of a wavelength corresponding to a light absorbing region. For example, in case the photocatalytic metal compound is titanium oxide, it has a photosensitive range in an ultraviolet region of 387 nm or less in an anatase type and 413 nm or less in a rutile type. Therefore, the light source to be employed is a light source emitting a light of such wavelength range, and it is a light source principally emitting an ultraviolet light. An area subjected to the irradiation of the actinic light is rendered hydrophilic by a photocatalytic effect. Means for forming an imagewise distribution of the hydrophilic areas by the photocatalytic effect of the actinic light can be a planar exposure method or a scanning method.

[0044]

In the former method, namely in the planar exposure method, uniform light is employed but the base plate is irradiated through a photomask in such manner that only an area corresponding to each cell of the object DNA chip is irradiated by the actinic light, thereby rendering the surface of the irradiated area hydrophilic. A light source suitable for the actinic light irradiation in the planar exposure method is a mercury lamp, a tungsten halogen lamp, another metal halide lamp, or a xenon discharge lamp.

[0045]

An irradiation amount for obtaining hydrophilicity is  $0.1 - 1000 \text{ J/cm}^2$ , preferably  $0.2 - 100 \text{ J/cm}^2$ , and more preferably  $0.2 - 10 \text{ J/cm}^2$ . Also a reciprocity often stands in a photocatalytic reaction, so that a same result can often be obtained by an

exposure of 100 seconds at 10 mW/cm<sup>2</sup>, and by an exposure of 1 second at 1 W/cm<sup>2</sup>, and, in such case, a range of selection of the light source emitting the actinic light becomes wider.

[0046]

In the latter method, namely in the scanning exposure, an optical system is so selected that a scanning converging light has such a beam diameter on the base plate as to provide an irradiated area of a size and a shape of an area corresponding to each cell of the object DNA chip. A scanning light source is preferably a laser light source emitting an actinic light, and can be a known laser emitting a beam of actinic light. For example, the laser light source can be a helium-cadmium laser having an oscillation wavelength at 325 nm, a water-cooled argon laser having an oscillation wavelength at 351.1 - 363.8 nm, or a zinc sulfide/cadmium laser having an oscillation wavelength at 330 - 340 nm. There can also be employed an ultraviolet laser, a gallium nitride type InGaN type potential well semiconductor laser having an oscillation wavelength at 360 - 440 nm with a confirmed near-ultraviolet laser oscillation, or a waveguide MgO-LiNbO<sub>3</sub> inverted domain wavelength conversion laser having an oscillation wavelength at 360 - 30 nm. The irradiation can be executed with a laser of an output of 0.1 - 300 W. A far ultraviolet solid state laser employed for image drawing may be utilized without an imagewise modulation. Also in case of employing a pulsed laser, the irradiation is preferably executed with a laser of a peak output of 1000 W, preferably 2000 W. In case the base plate is transparent, the exposure may be executed from the rear side of the base plate through the support member.

[0047]

<Micro section formation by heat application>

For a compound having so-called high-temperature hydrophilicity and

becoming hydrophilic when heated to a temperature of 250°C or higher, including a photocatalytic compound such as titanium oxide, a heating to the aforementioned temperature may be employed instead of the actinic light irradiation. A micro section formation by heating can be achieved by a contact heating method and a method by a scanned heating with a photothermal converting radiation such as an infrared light.

[0048]

In the former, namely in a micro section forming method by a heat application by contact heating, the heating is so executed as to selectively heat an area of the base plate corresponding to each cell in the object DNA chip thereby converting polarity to hydrophilic and not to cause a heat conduction around such area, whereby a hydrophilic area surrounded by a hydrophobic area is formed. For heating of such local area, there is employed a thermal recording head of any known contact thermal recording apparatus, for example a thermal fusion type or a sublimation dye transfer method. There can be employed a method of two-dimensionally driving a single thermal recording element, a drawing method of scanning an linear array of thermal recording elements in a perpendicular direction, or a high-speed drawing method employing two-dimensionally arranged recording elements.

[0049]

In the latter, namely a scanned heating method with a radiation such as an infrared light, a photothermal converting member is provided on the base plate and absorbs and converts the irradiated radiation into heat. Any photothermal converting member that can be carried on the base plate may be employed, but a preferred photothermal converting member is fine silver particles or fine carbon particles such as carbon black. The silver particles can be carried on the base plate surface by treating the base plate with a dispersion formed by dispersing commercial colloid silver powder

in an aqueous solution of a dispersant such as polyvinyl alcohol or gelatin, or by executing successively or simultaneously an immersion process of the base plate in an aqueous solution of silver nitrate and an immersion process into an aqueous solution of a reducing agent such as a neutral or alkaline aqueous solution of ascorbic acid or a Fehling's solution. A preferred size of the silver particles is 0.1 - 10000 nm, preferably 5 - 1000 nm and more preferably 20 - 200 nm. Among the carbon particles, there is preferred so-called carbon black, which is formed by an association of fine particles of a size of about 1 - 10 nm, often 2 - 5 nm in a grape-like form thereby showing an extremely high light absorbing ability. Such carbon black in any form therefore has a very high photothermal converting efficiency and can provide the base plate with a photothermal converting property without deteriorating the characteristics as the DNA chip substrate.

[0050]

A hydrophilization by a radiation is to replace the heat application in the aforementioned hydrophilization by heat application by a combination of a photothermal converting member and an irradiation with a radiation, and is same in the hydrophilization by a thermal action. A preferred light source for the radiation is an infrared lamp, a halogen-tungsten lamp, an infrared-emitting solid state laser, an infrared-emitting semiconductor laser or a photothermal converting apparatus emitting a flash light by a discharge of a large-capacity capacitor. Also depending on the type of the photothermal converting member, the radiation is not limited to an infrared light but can also be a visible light of a wavelength range effectively absorbed by the photothermal converting member, such as of a xenon discharge lamp or a visible light-emitting semiconductor laser.

[0051]

A particularly preferred heat source is a solid state laser emitting an infrared

light, a semiconductor laser emitting a light of infrared and visible region, an infrared lamp, a xenon discharge lamp, or an intermittent flash apparatus by a discharge of a large-capacity capacitor, and the light from such light source irradiates an area of the base plate to be rendered hydrophilic as a converging light by a directing apparatus.

[0052]

In the method of micro section formation by a scanning radiation, there is particularly preferred a method of employing an infrared laser source and scanning, with a laser beam, each area of the base plate corresponding to each cell of the object chip. Examples of the preferred laser source include a semiconductor laser, a gas laser, a helium-cadmium laser and a YAG laser having large proportions of near infrared and infrared components. The irradiation can be executed with a laser of an output of 0.1 - 300 W. Also in case of employing a pulsed laser, the irradiation is preferably executed with a laser of a peak output of 1000 W, preferably 2000 W.

[0053]

In this manner, the base plate is given a patterned structure of polarity change, constituted of hydrophilic micro areas so arranged as to form the cells of the DNA chip and a surrounding hydrophobic area, thereby completing a substrate for a DNA chip of the invention.

[0054]

## **II. Preparation of DNA chip**

A DNA chip is prepared utilizing the DNA chip substrate prepared in the aforementioned method. Referring to Fig. 1, a DNA chip is formed by accepting a DNA probe in a cell area provided in the substrate 11 to form a cell, and the DNA probe can be accepted in the cell area by any method capable of attaching the probe in the cell area, such as a method of pouring the probe by a micropipette or a syringe needle into the cell



area or a method of discharging a liquid droplet of the probe by an ink jet method. Among these there is particularly preferred an ink jet method employing a probe-containing liquid instead of an ink. In the following, an ink jet method will be principally explained with reference to Figs. 2 and 3. Fig. 2 is a schematic view showing a process of accepting a DNA probe by the substrate 11. Fig. 2 illustrates a process of accepting a DNA probe in succession from left to right. A left-end part of Fig. 2 shows a base plate surface having a hydrophilic cell area 13 and a hydrophobic surrounding area 14. Then, a portion at right indicates a state where a liquid droplet 16 of the DNA probe is discharged on the cell area 13, and a portion at further right indicates that the liquid droplet vanishes to spread the DNA probe over the cell area to form a liquid film, as indicated by broken lines 16' and 15'. At further right, it is shown that the DNA probe liquid film is accepted over the entire cell area to constitute a cell 15. In the cell 15, at a boundary between the liquid film and the hydrophobic peripheral area 14, the liquid spreading is suppressed by the hydrophobic barrier, whereby a liquid blotting or a mixing with an adjacent cell is prevented and a highly precise DNA chip can be prepared. In this operation, even if the discharge position of the liquid droplet 16 shows a certain displacement within the cell area, the liquid film spreading from the liquid droplet remains within the cell area because of a firm hydrophobic barrier of the peripheral area 14.

[0055]

Fig. 3 shows an embodiment of a DNA probe attaching apparatus of an ink jet method which discharges a liquid droplet toward the cell area, but the present invention is not limited to such embodiment. Fig. 3 shows a DNA chip producing apparatus which discharges a DNA chip onto the substrate thereby forming a cell, and which is provided with an ink jet liquid droplet discharge head capable of discharging a liquid droplet 16 of

a DNA chip onto a cell area 13 on the substrate 11, drive means 4 capable of varying a relative position of the ink jet liquid droplet discharge head 2 and the substrate 11, and control means 3 which controls a discharge of the liquid droplet 16 of the DNA probe from the ink jet liquid droplet discharge head 2 and a drive by the drive means 4 according to a control signal Sh. The control means 3 control the relative position of the ink jet liquid droplet discharge head 2 and the substrate 11 in such a manner that the liquid droplet 16 of a specified DNA probe is discharged to a cell area to which the specified DNA probe is to be attached, thereby forming a cell, and then causes, according to the control signal Sh, the ink jet liquid droplet discharge head 2 to discharge the liquid droplet 16 of the DNA probe onto the specified cell area 13. The cell area 13 accepts the liquid droplet and becomes a cell 15.

[0056]

The ink jet liquid droplet discharge head 2 is connected through a pipe 23 to a DNA probe reservoir 22 which contains the DNA probe 10 so as to be capable of supplying the DNA probe 10. The DNA probe 10 is changed in type according to a destination cell area based on a design of the DNA chip. Also for executing the DNA probe attaching process efficiently, the DNA probe reservoir and the ink jet liquid droplet discharge head may be provided in plural sets.

[0057]

For a liquid droplet discharging method in the ink jet liquid droplet discharge head there can be selected a known ink jet method such as a configuration of sandwiching a piezoelectric element such as a PZT element between an upper electrode and a lower electrode for causing a volumic change in the volume of the DNA probe liquid thereby discharging a liquid droplet, a head configuration of applying a heat by a heat generating member to the DNA probe to discharge a liquid droplet by an expansion

caused by such heat, or a head configuration causing a gasification by a heat generating member or by a spark under a voltage application and discharging a liquid droplet by a resulting pressure.

[0058]

The drive mechanism 4 is provided with a motor M1, a motor M2 and an unillustrated mechanism, and is rendered displaceable, together with the ink jet liquid droplet discharge head 2, in an X-axis direction (lateral direction in Fig. 3) and in a Y-axis direction (direction of depth in Fig. 3). The motor M1 is capable of displacing the ink jet liquid droplet discharge head 2 in the X-axis direction in response to a drive signal Sx. The motor M2 is capable of displacing the ink jet liquid droplet discharge head 2 in the Y-axis direction in response to a drive signal Sy.

[0059]

The drive mechanism 4 is only required to change the position of the ink jet liquid droplet discharge head 2 relative to the substrate 11. Therefore, there may be adopted, in addition to the aforementioned configuration, a configuration in which the substrate 11 moves relative to the ink jet liquid droplet discharge head 2, or a configuration in which the ink jet liquid droplet discharge head 2 and the substrate 11 move together.

[0060]

The foregoing description merely shows a specific preferred embodiment for the purpose of explaining the invention. Therefore the invention is not limited to the foregoing embodiment but includes various modifications and variations within an extent not exceeding the essence of the invention.

[0061]

III. Intensifying process of hydrophobicity of non-cell area of base plate

In the above-described producing method for the DNA chip of the invention, an exact DNA probe attaching is achieved by suppressing a diffusion blotting of the liquid droplet of the DNA probe by a hydrophilicity of each cell area of the substrate and a hydrophobicity around such area. By intensifying a hydrophobicity of a portion surrounding each cell area of the DNA chip substrate in a stage of the base plate and preparing the substrate by forming a cell area on such base plate, the liquid blotting or a staining by the liquid can be further suppressed to enable a securer preparation of the DNA chip. A hydrophobicity intensifying treatment is conducted, prior to the micro section formation on the base plate surface, by contacting a hydrophobic substance with the base plate surface. When the hydrophobicity intensifying treatment is conducted, most hydrophobic organic substances change to carbon dioxide gas and water when subjected to an irradiation of the actinic light or a heat application, whereby the surfacial hydrophobic layer disappears, so that the treatment does not affect the hydrophilicity of the cell area formed after the hydrophobicity intensifying treatment and can selectively render the non-cell area only hydrophobic.

[0062]

In the following, there will be explained a hydrophobicity intensifying treatment for the non-cell area of the base plate. The hydrophobicity intensification can be achieved by any known method such as a coating, a spraying, a gafising and condensing, a gas contacting, or a dipping of a hydrophobic substance (also called a hydrophobic agent). However a gas contact method is preferred because of its simplicity. The gas contact method can be executed, for example, by introducing a gaseous organic compound into an air thermostat tank, or by introducing a volatile organic compound and heating the interior of the tank.

[0063]

**<Method of hydrophobicity intensification>**

a. A coating treatment is a hydrophobic layer providing method applicable to a liquid or solid hydrophobic agent. It may be coated directly in case it is liquid, or coated in a liquid dissolved or dispersed in a suitable solvent in case it is solid or also in case it is liquid if desired.

**[0064]**

The coating treatment can be executed by a known method for example a coating development method such as a gravure coating, a reverse coating, a hopper coating or a slit coating. Also there is preferred a sheet treatment in which a medium carrying a hydrophobic agent is used to form a coated film on the base plate. For such method, there can be utilized a method described in Japanese Patent No. 2655337. As a medium for carrying the hydrophobic agent, there can be employed a felt, a textile or a metal having slits or pores. Among these, there is preferably employed a liquid coating method with a sponge or the like as described in JP-A Nos. 8-290088, 8-290087 and 9-138493.

**[0065]**

In the coating treatment, a preferred coating amount is only required to achieve at least a higher hydrophobicity in the peripheral area of the cell, and, though dependent on a concentration etc. of the hydrophobic agent, is generally 10 - 100 ml/m<sup>2</sup>, preferably 15 - 50 ml/m<sup>2</sup>.

**[0066]**

**b. Spraying treatment**

A spraying treatment executes a hydrophobic treatment by spraying, onto the base plate surface, a hydrophobic agent or a hydrophobic agent solution prepared as a liquid or a dispersion liquid as in the coating treatment. It is also possible to employ a

sprayed liquid amount in excess of a necessary supply liquid amount and to recycle and reuse the excessive hydrophobic agent or hydrophobic agent solution overflowing from the applied surface. A spraying method of the hydrophobic agent or hydrophobic agent solution is not restricted in a method or a number of a shape of a nozzle, and the spraying may be executed by moving a single movable nozzle or with plural fixed nozzles. Also the spraying may be executed by fixing the base plate or the object DNA chip while moving the nozzle, or by fixing the nozzle and moving the base plate or the object DNA chip. Among these, there is particularly preferred a method of spraying a hydrophobic agent or a hydrophobic agent solution by a hydrophobic agent coating apparatus having, as described in JP-A Nos. 8-123001, 9-160208 and 9-179272, a nozzle in which plural nozzle apertures for discharging the hydrophobic agent or the hydrophobic agent solution are arranged in a linear array with a predetermined pitch in a direction crossing a conveying direction of the base plate, and an actuator for displacing such nozzle relative to a base plate in a conveying path. For the hydrophobicity intensification by the ink jet method applicable in the invention, there can be employed not only an electrostatic discharge type but also a known ink jet printer.

[0067]

c. Gasification-condensation method

A gas contact method is to heat a sublimable solid hydrophobic agent, a volatile hydrophobic agent, or an easily evaporable hydrophobic agent solution thereby forming a gas in contact with a surface of the base plate or the base DNA chip thereby condensing a film of the hydrophobic agent. An organic compound effective for this method has a boiling point of 30 - 200°C and is stable within a temperature range of 30 - 100°C, and a particularly preferable boiling point range is 50 - 100°C.

[0068]

**d. Gas contact method**

In case the hydrophobic agent is a gas, particularly an aforementioned fluorine-containing organic compound, a high hydrophobicity intensification can be achieved by placing a printing base plate in an atmosphere containing such gas.

[0069]

**e. Dipping method**

A method of dipping a printing base plate in a dipping tank can also be employed.

[0070]

<Hydrophobic agent>

In the invention, “hydrophobicity” means a contact angle to water on the base plate of 40° or larger, preferably 60° or larger, and higher by 40° or larger than a contact angle to water of the cell area. A compound meeting such requirements of the hydrophobic agent can be found in low-molecular organic compounds and organic silicon compounds.

[0071]

**1) Low-molecular organic compound**

A low-molecular organic compound employable as the hydrophobic agent in the invention is a low-molecular organic compound having an organic/inorganic ratio of 0.7 or higher in the organic property chart, and a low-molecular compound means a compound having a boiling point or a melting point, and such compound generally has a molecular weight of 2000 or less, often 1000 or less.

[0072]

A low-molecular organic compound having an organic/inorganic ratio of 0.7 or higher in the organic property chart can be found in an aromatic hydrocarbon, an

aliphatic and aromatic carboxylic acid, an aliphatic and aromatic alcohol, an aliphatic and aromatic ester, an aliphatic and aromatic ether, an organic amine, an organic silicon compound, and various solvents and plasticizers known to be added in printing inks.

[0073]

A preferred aliphatic hydrocarbon includes 8 - 30 carbon atoms, more preferably 8 - 20 carbon atoms, and a preferred aromatic hydrocarbon includes 6 - 40 carbon atoms, more preferably 6 - 20 carbon atoms. A preferred aliphatic alcohol includes 4 - 30 carbon atoms, more preferably 6 - 18 carbon atoms, and a preferred aromatic alcohol includes 6 - 30 carbon atoms, more preferably 6 - 18 carbon atoms. A preferred aliphatic carboxylic acid includes 4 - 24 carbon atoms, more preferably an aliphatic monocarboxylic acid with 6 - 20 carbon atoms or an aliphatic polycarboxylic acid with 4 - 12 carbon atoms, and a preferred aromatic carboxylic acid includes 6 - 30 carbon atoms, more preferably 6 - 18 carbon atoms. A preferred aliphatic ester includes 2 - 30 carbon atoms, more preferably 2 - 18 carbon atoms, and a preferred aromatic ester includes 8 - 30 carbon atoms, more preferably 8 - 18 carbon atoms. A preferred aliphatic ether includes 8 - 36 carbon atoms, more preferably 8 - 18 carbon atoms, and a preferred aromatic ether includes 7 - 30 carbon atoms, more preferably 7 - 18 carbon atoms. In addition there can also be used an aliphatic or aromatic amide with 7 - 30 carbon atoms, more preferably 7 - 18 carbon atoms.

[0074]

Specific examples include an aliphatic hydrocarbon such as 2,2,4-trimethylpentane (isooctane), n-nonane, n-decane, n-hexadecane, octadecane, eicosane, methylheptane, 2,2-dimethylhexane or 2-methyloctane; an aromatic hydrocarbon such as benzene, toluene, xylene, cumene, naphthalene, anthracene or styrene; a monohydric alcohol such as dodecyl alcohol, octyl alcohol, n-octadecyl alcohol,



2-octanol or lauryl alcohol; a polyhydric alcohol such as hexyleneglycol or dipropylene glycol; an aromatic alcohol such as benzyl alcohol, 4-hydroxytoluene, phenethyl alcohol, 1-naphthol, 2-naphthol, cathecol or phenol; an aliphatic monovalent carboxylic acid such as butyric acid, caproic acid, acrylic acid, crotonic acid, capric acid, stearic acid or oleic acid; an aromatic carboxylic acid such as benzoic acid, 2-methylbenzoic acid or 4-methylbenzoic acid; an aliphatic ester such as ethyl acetate, isobutyl acetate, n-butyl acetate, methyl propionate, ethyl propionate, methyl butyrate, methyl acrylate, dimethyl oxalate, dimethyl succinate, or methyl crotonate; an aromatic carboxylic acid ester such as methyl benzoate or methyl 2-methylbenzoate; an organic amine such as imidazole, 2,2-dimethylimidazole, 4-methylimidazole, indazole, benzimidazole, cyclohexylamine, hexamethylenetetramine, trimethylenetetramine, octylamine, or phenethylamine; a ketone such as methyl ethyl ketone, methyl isobutyl ketone or benzophenone; an ether such as methoxybenzene, ethoxybenzene, methoxytoluene, lauryl methyl ether or stearyl methyl ether; and an amide such as stearyl amide, benzoyl amide or acetamide. In addition there can also be employed an organic solvent having a boiling point within the aforementioned preferred range, such as ethylene glycol monoethyl ether, cyclohexanone, butyl cellosolve or cellosolve acetate.

[0075]

Examples also include an oil or a fat used as a component of a printing ink, such as linseed oil, soybean oil, poppy seed oil or sunflower oil; and a plasticizer such as tributyl phosphate, tricresyl phosphate, dibutyl phthalate, butyl laurate, dioctyl phthalate or paraffin wax.

[0076]

Also an ester of a long-chain fatty acid and a long-chain monohydric alcohol, namely a wax, has hydrophobicity and a suitably low melting point, and is a preferable

low-molecular organic compound which is fused, in the vicinity of a photothermal converting fine particle, by a heat generated by a light irradiation thereby rendering its area hydrophobic. A preferred wax is fused at 50 - 200°C, and there can be employed any of waxes called carnauba wax, castor wax, microcrystalline wax, paraffin wax, shellac wax, palm wax or bee wax depending on the raw material. In addition to the wax, there can also be employed a dispersion of fine particles for example a solid acid such as oleic acid, stearic acid or palmitic acid; or a metal salt of a long-chain fatty acid such as silver behenate, calcium stearate, or magnesium palmitate.

[0077]

Among the low-molecular organic compounds, a perfluoro compound is advantageous in effectively realizing hydrophobic state. Examples of the preferred perfluoro compound include an aliphatic perfluorocarboxylic acid such as perfluoroacetic acid, perfluorobutyric acid, perfluorovaleric acid, perfluorocaproic acid, perfluoroheptonic acid, perfluorocapronic acid, or perfluorocaprylic acid; a perfluorohydrocarbon such as perfluorohexane, perfluorooctane, perfluorotripropylamine, perfluorotributylamine, perfluorohexyl ether, or perfluorododecane; and an aliphatic perfluoroalcohol such as perfluorobutanol, perfluoropentanol, perfluorohexanol, perfluorooctanol or perfluorododecyl alcohol.

[0078]

## 2) Organic silicon compound

A preferred organic silicon compound is a hydrophobic agent which effectively renders hydrophobic a surface of a layer containing a hydrophilic/hydrophobic material in a printing base plate. An organic silicon compound used for this purpose can be an organopolysiloxane, an organosilane and a fluorine-containing silicon compound.

### a. Organopolysiloxane

An organopolysiloxane is a compound represented for example by dimethylsilicone oil, or methylphenylsilicone oil, and an organopolysiloxane with a polymerization degree of 12 or less is particularly preferable. In such preferred organopolysiloxane, 1 - 2 organic groups are bonded per a siloxane bond, and such organic group is an alkyl group or an alkoxy group with 1 - 18 carbon atoms, an alkenyl group or an alkynyl group with 2 - 18 carbon atoms, an aryl group with 6 - 18 carbon atoms, an aralkyl group with 7 - 18 carbon atoms, or an alicyclic group with 5 - 20 carbon atoms. Also such organic substituent may be further substituted with a halogen atom, a carboxyl group or a hydroxyl group. Also the aforementioned aryl, aralkyl, or alicyclic group may be further substituted with a lower alkyl group such as a methyl group, an ethyl group or a propyl group within the aforementioned range of the carbon atoms.

[0079]

Specific examples of the organic silicon compound preferred in the present invention are shown in the following, but the present invention is not limited to such examples. A preferred polyorganosiloxane includes at least one of (1) a dialkylsiloxane group having an alkyl group with 1 - 5 carbon atoms, (2) a dialkoxysiloxane group having an alkoxy group with 1 - 5 carbon atoms, (3) an alkoxyphenylsiloxane group having an alkoxy group with 1 - 5 carbon atoms and a phenyl group, and (4) an ethoxymethoxysiloxane group or a methoxyethoxysiloxane group, as a repeating unit and has a polymerization degree of 2 - 12, more preferably 2 - 10. Also its terminal group is an alkyl group with 1 - 5 carbon atoms, an amino group, a hydroxyl group, a hydroxyalkyl group with 1 - 5 carbon atoms or an alkoxy group with 1 - 5 carbon atoms. A more preferred terminal group is a methyl group, an ethyl group, an isopropyl group, an n-propyl group, an n-butyl group, a t-butyl group, a methoxy group or an ethoxy

group. Among these, a particularly preferred siloxane compound is dimethylpolysiloxane with a polymerization degree of 2 - 10, a dimethylsiloxane-methylphenylsiloxane copolymer with a polymerization degree of 2 - 10, a dimethylsiloxane-diphenylsiloxane copolymer with a polymerization degree of 2 - 8, or a dimethylsiloxane-monomethylsiloxane copolymer with a polymerization degree of 2 - 8, and such polysiloxane compounds having a terminal trimethylsilane group. Other examples include 1,3-bis(3-aminopropyl)tetramethyldisiloxane, 1,5-bis(3-aminopropyl)hexamethyltrisiloxane, 1,3-dibutyl-1,1,3,3-tetramethyldisiloxane, 1,5-dibutyl-1,1,3,3,5,5-hexaethyltrisiloxane, 1,1,3,3,5,5-hexaethyl-1,5-dichlorotrisiloxane, 3-(3,3,3-trifluoropropyl)-1,1,3,3,5,5,5-heptamethyltrisiloxane and decamethyltetrasiloxane.

[0080]

A particularly preferred common compound is so-called silicone oil, such as dimethyl silicone oil (in commercial product for example Silicone KF96 (manufactured by Shin-etsu Chemical Co.)), methylphenyl silicone oil (in commercial product for example Silicone KF50 (manufactured by Shin-etsu Chemical Co.)), or methylhydrogen silicone oil (in commercial product for example Silicone KF99 (manufactured by Shin-etsu Chemical Co.)).

[0081]

**b. Organosilane**

An organosilane compound employable as the hydrophobic agent can be, for example, n-decyltrimethoxysilane, n-decyltri-t-butoxysilane, n-octadecyltrimethoxysilane, n-octadecyltriethoxysilane or dimethoxydiethoxysilane.

[0082]

**c. Fluorine-containing organic silicon compound**

A silane, a silanol or a siloxane having a fluorine-containing organic group as a substituent can also be employed as a hydrophobic agent. A preferred fluorine-containing organic silicon compound can be a silane, a silanol or a siloxane having, as an organic substituent, a polyfluoroalkyl group (a 3,3,3-trifluoropropyl group, a trifluoromethyl group, a trifluorobutyl group, a trifluoroethyl group, a trifluoropentyl group or a 3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexyl group), a trifluoroacyloxy group (trifluoroacetoxy group, or a 2,2,2-trifluoroethoxy group), a trifluoroacyl group (a trifluoroacetyl group), or a trifluoroalkylsulfon group (trifluoromethanesulfon group or a 3,3,3-trifluoropropylsulfon group).

[0083]

Specific examples include:

methyl-3,3,3-trifluoropropyldichlorosilane,  
trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate,  
trifluoroacetoxymethylsilane,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexyltrichlorosilane,  
dimethoxymethyl-3,3,3-trifluoropropylsilane,  
3,3,3-trifluoropropylsilane-trimethoxysilane,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylmethyldichlorosilane,  
3-trifluoroacetoxytrimethoxysilane,  
1,3,5-tris(3,3,3-trifluoropropyl)-1,3,5-trimethylcyclotrisiloxane,  
1,3,5,7-tetrakis(3,3,3-trifluoropropyl)-1,3,5,7-tetramethylcyclotetrasiloxane,  
1,1,3,5,5,-penta(3,3,3-trifluoropropyl)-1,3,5-trimethyltrisiloxane,  
1,1,3,5,7,7-hexa(3,3,3-trifluoropropyl)-1,3,5,7-tetramethyltetrasiloxane,

methyl-3,3,3-trifluoropropylsilanediol,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylsilanetriol,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylmethylsilanediol,  
pentafluoroethoxysilanetriol,  
trifluoromethylsilanetriol, and  
3,3,3-trifluoropropylethoxysilanetriol.

[0084]

Preferred compounds are:

methyl-3,3,3-trifluoropropylchlorosilane,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexyltrichlorosilane,  
3,3,3-trifluoropropylsilane-trimethoxysilane,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylmethyldichlorosilane,  
1,3,5-tris(3,3,3-trifluoropropyl)-1,3,5-trimethylcyclotrisiloxane,  
methyl-3,3,3-trifluoropropylsilanediol,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylsilanetriol,  
3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylmethylsilanediol,  
pentafluoroethoxysilanetriol,  
trifluoromethylsilanetriol, and  
3,3,3-trifluoropropylethoxysilanetriol. These organic silicon compounds are commercially available for example from Shin-etsu Chemical Co. Also such available chlorosilane may be hydrolyzed to obtain a silanol, or hydrolyzed and condensed to obtain a polyorganosiloxane.

[0085]

The hydrophobic agent may be a low-molecular organic compound only, an organic silicon compound only, or a mixture thereof, or may contain a third component

for improving an affinity of the two.

[0086]

The hydrophobic agent may be mixed or dispersed in an organic solvent such as ethylene glycol monoethyl ether, cyclohexanone, methyl cellosolve, butyl cellosolve, cellosolve acetate, 1,4-dioxane, dimethylformamide or acrylonitrile for forming a solution or a dispersion.

[0087]

[Examples]

In the following, embodiments of the present invention will be further clarified by examples, but the present invention is not limited by such examples.

[Example 1]

A quartz glass base plate was placed in a vacuum evaporation apparatus, and a titanium metal piece was electrically heated under a condition of a total pressure of  $2.0 \times 10^{-2}$  Pa with an oxygen partial pressure of 70 % to evaporate a titanium oxide film on the glass base plate. The  $\text{TiO}_2$  film had a crystal component, analyzed by an X-ray diffractometry to have an amorphous/anatase/rutile ratio of 1.5/6.5/2 and a thickness of 200 nm (2000 Angstroms). The base plate surface had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of 48 - 55° in any portion.

[0088]

Then a photomask, having a transmission pattern of a size and an arrangement same as those of the cells of a DNA chip to be prepared, was contacted with the base plate bearing the aforementioned titanium evaporated film, and, utilizing a US10 printing light source Unirex URM600, Model GH60201X (manufactured by Ushio Corp.), the base plate surface was irradiated with the actinic light for 10 seconds through the

photomask, with a light intensity of  $50 \text{ mW/cm}^2$  at the base plate surface, thereby preparing a DNA chip substrate. The cell area, namely the irradiated area, on the base plate surface had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of  $7 - 9^\circ$  in any cell area.

[0089]

This substrate was used in the apparatus explained in Fig. 3, and a DNA probe 10 was stored in the DNA probe reservoir 22, guided through the pipe 23 to the ink jet liquid droplet discharge head 2 and discharged as a droplet 16 onto the cell area 13 on the base plate 11 according to the control signal from the control circuit 3, thereby forming a cell. According to the designing of the DNA chip, the kind of the DNA probe was changed by the destination cell area and the above-explained DNA probe attaching operation was repeated. The DNA probe did not overflow from the cell area, so that an exact DNA chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0090]

[Example 2]

A quartz glass base plate was set in a vacuum evaporation apparatus, and zinc was evaporated with a thickness of 100 nm (1000 Angstroms) under a condition of a total pressure of 0.01 Pa. It was then oxidized for 2 hours at  $600^\circ\text{C}$  in the air to form a zinc oxide film on a surface of the glass plate. Then a DNA chip substrate was prepared in the same manner as in Example 1 except for utilizing the base plate with the zinc oxide film. The base plate surface had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of  $7 - 9^\circ$  in the irradiated area, and  $52 - 55^\circ$  in the non-irradiated



area.

[0091]

This substrate was used in the ink jet method as in Example 1 whereby a DNA chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0092]

[Example 3]

A commercial polyimide film of a thickness of 200  $\mu$  (Capton, manufactured by Toray-DuPont Ltd.) was immersed in a 20 % ethanol solution containing cesium ethoxide, titanium butoxide, lanthanum isobutoxide and niobium ethoxide corresponding to a stoichiometric ratio of  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  to hydrolyze the surface, and then heated to 280°C to form a  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  film of a thickness of 100 nm (1000 Angstrom) on a surface of the polyimide film substrate. Then a DNA chip substrate was prepared in the same manner as in Example 1 except for utilizing the flexible base plate with the  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  film. The base plate surface had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of 7 - 9° in the irradiated area, and 52 - 55° in the non-irradiated area.

[0093]

This substrate was used in the ink jet method as in Example 1 whereby a DNA chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0094]

[Example 4]

In Example 1, the irradiation with the actinic light was conducted, instead of the planar exposure method with Unirex URM600, by a scanning exposure with a helium-cadmium laser. The helium-cadmium laser employed for the exposure had an

oscillation wavelength of 325 nm, and the irradiation was so conducted that the irradiating spot matches a size and an arrangement of the cells of the object DNA chip by controlling a beam radius, an oscillation interval and a scanning speed on the irradiated surface.

[0095]

The irradiating conditions by the laser beam were as follows:

laser output:	200 mW
beam radius:	50.0 $\mu\text{m}$
scan speed:	1.7 m/sec
output:	700 mJ/cm <sup>2</sup>
emission interval:	7 $\mu\text{sec}$ .

The base plate surface had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of 7 - 9° in the irradiated area, and 52 - 55° in the non-irradiated area.

[0096]

This substrate was used in the ink jet method as in Example 1 whereby a DNA chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0097]

[Example 5]

A base plate with a flexible film prepared in Example 3 was subjected in a thermal fusion transfer apparatus to a local heating in such a manner that heated spots to be reproduced have a size and an arrangement corresponding to those of the cells of the DNA chip to be prepared. More specifically, a work station (thermal printer) converted the repetition of hydrophilic area (heated portion) and hydrophobic area

(non-heated portion) to be reproduced on the flexible film into an electrical image signal and drove the thermal head thereby executing spot-shaped contact heating on the base plate surface, corresponding the shape and the size of the object chip. The thermal printer had an array of thermal heads of 500 x 500  $\mu\text{m}$  constituted of a Ta-SiO<sub>2</sub> heat generating member with a thiaron anti-abrasion protective layer thereon, arranged with an interval of 250  $\mu\text{m}$ , in which the thermal head had a heating ability reaching 450°C by an energization for 20 msec, and a scanning speed was set at 40 msec/m. The base plate surface had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of 7 - 9° in the irradiated area, and 52 - 55° in the non-irradiated area.

[0098]

This substrate was used in the ink jet method as in Example 1 whereby a DNA chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0099]

[Example 6]

On a quartz glass plate, a titanium oxide film of a thickness of 200 nm (2000 Angstrom) was evaporated by a method described in Example 1. A flat plate containing perfluoroacetic acid was placed in an air thermostat tank, and the temperature was maintained at 90°C to saturate the air in the thermostat with the vapor of perfluoroacetic acid. Then the glass plate bearing the aforementioned titanium oxide film was set and placed therein for 10 minutes, and taken out for use as a DNA chip substrate. The base plate had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of 88 - 93°. Then a DNA chip substrate was prepared in the same manner as in Example 1 except for utilizing this base plate. The base plate surface had a contact

angle to water within a range of 7 - 9° in the irradiated area, and 88 - 93° in the non-irradiated area.

[0100]

This substrate was used in the ink jet method as in Example 1 whereby a DNA chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0101]

[Example 7]

A base plate prepared by forming a titanium oxide film of a thickness of 200 nm (2000 Angstrom) on a quartz glass plate by the method of Example 1 was immersed for 5 seconds in a 1N aqueous solution of silver nitrate, then taken out and immediately immersed in a Fehling's solution for 10 seconds. The base plate was taken out, and immersions in the silver nitrate solution and the Fehling's solution were repeated. The Fehling's solution was prepared immediately before use by mixing a 69.2 g/L aqueous solution of copper sulfate pentahydrate, and a mixed aqueous solution of potassium sodium tartarate at 346 g/L and sodium hydroxide at 100 g/L in equivalent amounts. The substrate surface became black, showing deposition of silver particles. The glass plate with the titanium oxide film bearing the silver particles was used as a base plate for preparing a DNA chip substrate. The base plate had a contact angle to water, measured with a contact angle meter CA-D (manufactured by Kyowa Interface Science Co.) by a droplet-in-air method, within a range of 48 - 53°. Then a DNA chip substrate was prepared in the same manner as in Example 1 except for utilizing this base plate. The base plate surface had a contact angle to water within a range of 7 - 9° in the irradiated area, and 48 - 53° in the non-irradiated area.

[0102]

This substrate was used in the ink jet method as in Example 1 whereby a DNA

chip with excellent precision could be prepared with prompt and simple operations.

[0103]

[Effect of the Invention]

As explained in the foregoing, by employing a base plate for a DNA chip provided with a hydrophilic cell area on a base plate by an irradiation of an actinic light or by a heat application, in attaching a DNA probe to the cell area, the probe liquid does not overflow from the cell area nor causes a mixing, whereby a DNA chip of a high precision can be produced with a high yield. Also by applying a hydrophobicity intensifying treatment in advance to the base plate at the preparation of the substrate, the precision of reproduction can be further improved.

[Brief Description of the Drawings]

[Fig. 1] A schematic view showing a DNA chip substrate in which cells and cell areas are arranged.

[Fig. 2] A schematic view showing process of attaching a DNA probe to a DNA chip substrate of the invention by an ink jet method.

[Fig. 3] A view showing a configuration of a DNA chip producing apparatus of the invention of an ink jet method.

[Description of Symbols]

- 2 ink jet liquid droplet discharge head
- 3 control means
- 4 drive means
- 10 DNA probe
- 11 DNA chip substrate
- 12 base plate
- 13 cell area

<b>14</b>	<b>hydrophobic area (non-cell area)</b>
<b>15</b>	<b>cell</b>
<b>16</b>	<b>liquid droplet</b>
<b>15'</b>	<b>cell in forming process</b>
<b>16'</b>	<b>liquid droplet in disappearing process</b>
<b>22</b>	<b>DNA probe reservoir</b>
<b>23</b>	<b>pipe</b>
<b>M1</b>	<b>motor</b>
<b>M2</b>	<b>motor</b>
<b>Sh</b>	<b>control signal</b>
<b>Sx</b>	<b>drive signal</b>
<b>Sy</b>	<b>drive signal</b>

FIG 1

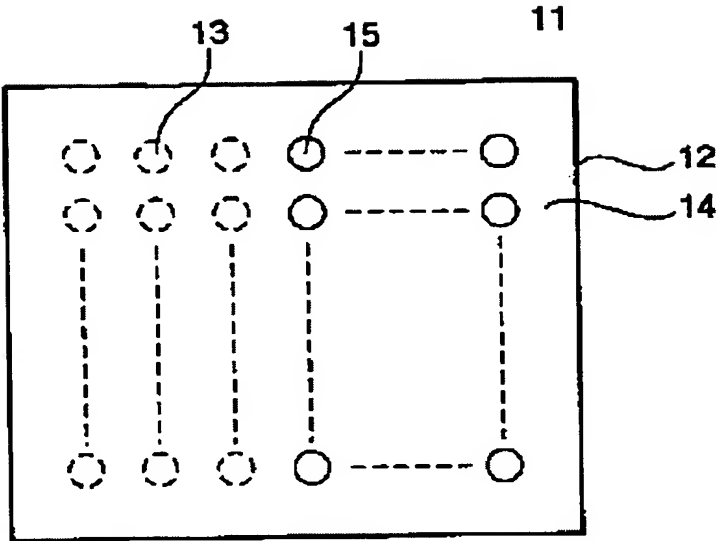
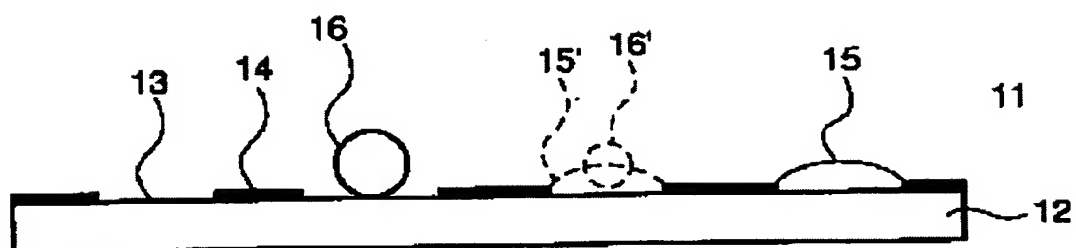
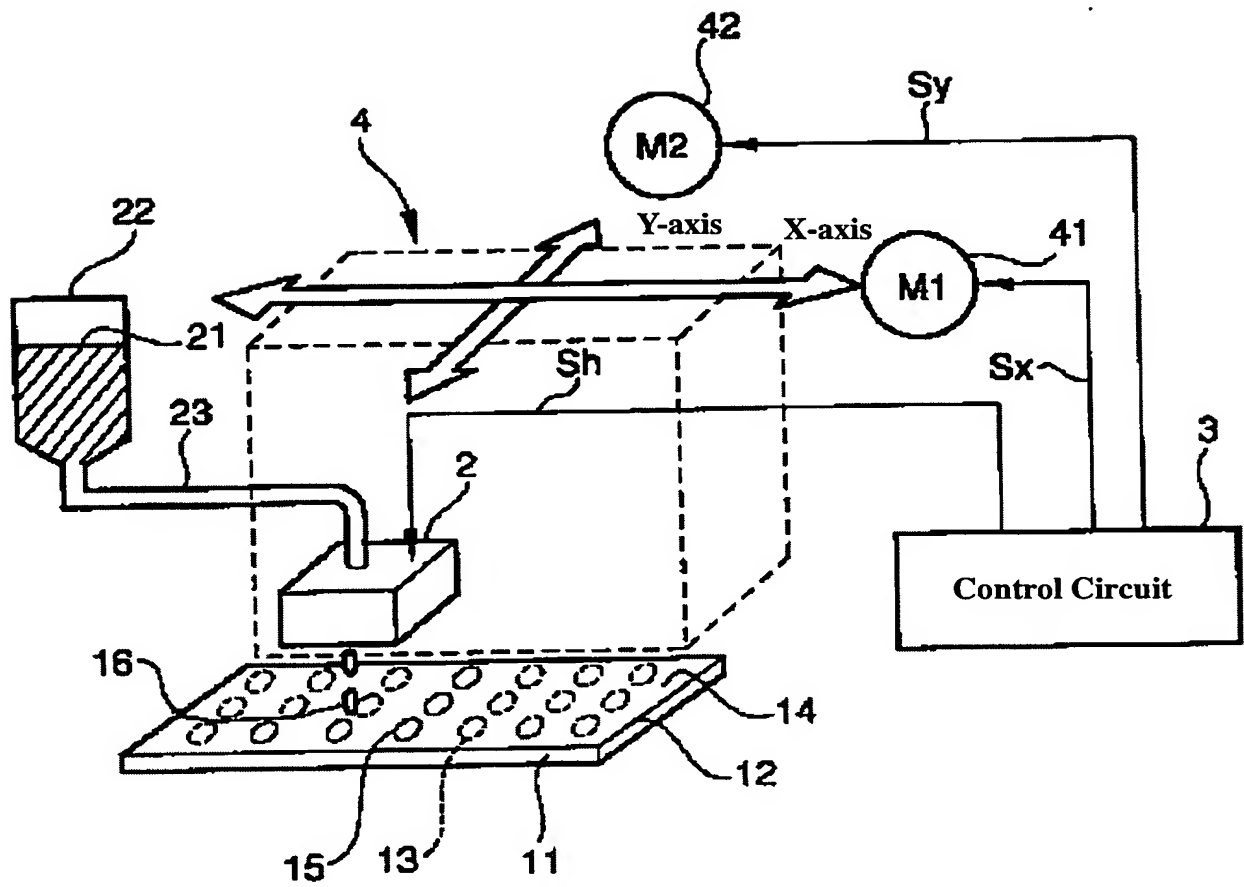


FIG 2





**FIG 3**



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2003-28864  
(P2003-28864A)

(43) 公開日 平成15年1月29日 (2003.1.29)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 2 G 0 4 2
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A 4 B 0 2 4
C 1 2 N 15/09		G 0 1 N 31/22	1 2 1 P 4 B 0 2 9
G 0 1 N 31/22	1 2 1	37/00	1 0 2
37/00	1 0 2	C 1 2 N 15/00	F
審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 15 頁)			

(21)出願番号	特願2001-213454(P2001-213454)	(71)出願人	000005201 富士写真フイルム株式会社 神奈川県南足柄市中沼210番地
(22)出願日	平成13年7月13日(2001.7.13)	(72)発明者	中山 隆雄 静岡県榛原郡吉田町川尻4000番地 富士写真フイルム株式会社内
		(72)発明者	川村 浩一 静岡県榛原郡吉田町川尻4000番地 富士写真フイルム株式会社内
		(74)代理人	100105647 弁理士 小栗 昌平 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 DNAチップ用基板及びその製造方法並びにDNAチップの製造方法

(57) 【要約】

【課題】 得率が高く、かつDNAプローブのはり付けが確実に行われるDNAチップを得ることができるDNAチップ用基板、その製造方法、及びその基板を用いるDNAチップの製造方法を提示すること。

【解決手段】 疎水性であって光又は熱的作用によって親水性となる表面を有する原板上に複数の親水性微小領域を配列させたDNAチップ用基板。及び該親水性微小領域にDNAプローブを受容させるDNAチップの製造方法。とくに、DNAプローブを含む液滴をインクジェット方式によって受容させるDNAチップの製造方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 疎水性であって光又は熱の作用によって親水性となる表面を有する原板上に複数の親水性微小領域を配列させてなり、該親水性微小領域がDNAプローブを受容するセル領域を構成していることを特徴とするDNAチップ用基板。

【請求項2】 親水性微小領域の水に対する接触角が30度以下であって、かつ該微小領域を取り囲む疎水性表面の水に対する接触角よりも少なくとも40度低いことを特徴とする請求項1に記載のDNAチップ用基板。

【請求項3】 表面が、 $TiO_2$ 、 $R TiO_3$ （Rはアルカリ土類金属原子）、 $AB_{2-x}C_xD_{3-x}E_xO_{10}$ （Aは水素原子又はアルカリ金属原子、Bはアルカリ土類金属原子又は鉛原子、Cは希土類原子、Dは周期律表の5A族元素に属する金属原子、Eは同じく4A族元素に属する金属原子、xは0～2の任意の数値を表す）、 $SnO_2$ 、 $ZrO_2$ 、 $Bi_2O_3$ 、 $ZnO$ 及び $FeO_y$ （ $y=1\sim1.5$ ）で表される酸化鉄、から選ばれる金属酸化物の少なくとも一つによって構成されていることを特徴とする請求項1又は2に記載のDNAチップ用基板。

【請求項4】 原板の疎水性表面に活性光の照射又は熱を印加を施すことによって該表面上に所定の大きさと形状を有する複数の配列した親水性微小領域を形成させることを特徴とするDNAチップ用基板の製造方法。

【請求項5】 親水性微小領域の形成が、光源と基板との間にフォトマスクを介してなされる活性光の照射、レーザー光の間歇発光による走査露光、熱ヘッドの走査による熱の印加及び光熱変換性の輻射線の照射のいずれかによって行われることを特徴とする請求項4に記載のDNAチップ用基板の製造方法。

【請求項6】 原板の表面に疎水性有機化合物による処理を施した後、活性光の照射又は熱の印加によって親水性微小領域を形成させることを特徴とする請求項4又は5に記載のDNAチップ用基板の製造方法。

【請求項7】 疎水性であって光又は熱の作用によって親水性となる表面を有する原板上に複数の親水性微小領域を配列させたDNAチップ用基板を用い、該親水性微小領域にDNAプローブを受容させることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項8】 原板上に配列した複数の親水性微小領域に、DNAプローブを含む液滴をインクジェット方式によって受容させることを特徴とする請求項7に記載のDNAチップの製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、多数のオリゴヌクレオチドが固相表面に整列して固定化されたDNAチップの基板、その製造方法、及びその基板を用いるDNAチップに関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】遺伝子の発現の様子をモニタする方法として、DNAチップを用いる方法がある。DNAチップは、種々の遺伝子に対応した多数のオリゴヌクレオチド（DNAプローブともいう）が固相表面に整列して固定化されてオリゴヌクレオチドマトリックスが形成された素子で、通常約1cm角のシリコンチップ上に数千個あるいは1万個以上のDNAプローブを載せたものである。DNAチップを用いる遺伝子検査方法では、PCR反応（Polymerase Chain Reaction）を用いて、試料としてのmRNA（メッセンジャーRNA）のcDNA（相補的なDNA）を合成し、断片化した後に各断片に蛍光標識をつけて標識断片とする。これらの標識断片をDNAチップに接触させ、DNAチップに固定化されたオリゴヌクレオチドにハイブリダイゼーションさせる。標識断片は配列が相補的なオリゴヌクレオチドに保持され、過剰量の標識断片は洗浄操作で除去される。その後、蛍光顕微鏡を用いて保持された標識断片の量及び位置を検出し、対応するオリゴヌクレオチドの種類を調べる。この方法によって、DNA断片の配列を解明することができるので、遺伝子関連の研究や遺伝子解析の手段として有用であり、例えばこの方法により、ガン遺伝子の突然変異の検出が可能であることが示されている。

【0003】DNAチップの製造方法は、大別して次の3種類がある。第1の方法では、光化学的に除去できる保護基で修飾した複数のリンカーを、アミノ基を介して、固相表面に結合させて配列しておく。半導体製造技術で使用されているフォトリソグラフィー技術を応用して、所望のリンカー固定位置のみを照射できるマスクを介して光照射し、保護基を除去する。次に、光化学的に除去できる保護基をもつ単量体を導入して最初のカップリング反応を行なう。これによって、その部分だけオリゴヌクレオチドが伸長される。フォトリソグラフィー及び単量体の導入を繰り返すことにより、所望のオリゴヌクレオチドマトリックスを形成する。

【0004】第2の方法では、固定化するオリゴヌクレオチドを予め準備し、そのオリゴヌクレオチドをガラスやポリマー膜などの固相表面に微量滴下し、その位置に共有結合によって固定化する。例えば、固相表面にインゾシアネート基を導入しておき、オリゴヌクレオチドの末端をアミノ基にしておけば、インゾシアネート基固定位置にオリゴヌクレオチドを共有結合によって容易に固定化することができる。

【0005】第3の方法では、固定化するオリゴヌクレオチドを予め準備し、そのオリゴヌクレオチドをガラスやポリマー膜などの固相表面に微量滴下し、その滴下位置に吸着作用によって固定化する。

【0006】しかし、上記のDNAチップの製造方法では、いずれの方法においても、1枚のDNAチップを作製するのに長時間を要し、製造コストが高くなる。その中では、第3の方法は、比較的容易で低コストではあ

る。しかし、吸着作用によるオリゴヌクレオチドの滴下位置への固定化は一般に不確実であって、液滴の広がりが大きくなりがちである。したがって、転写の際に横方向の拡散にじみなどによって、例えば、DNAチップ上の隣接するセル間でのPCR反応液の混入などの複製エラーの危険性や生産性の低下のリスクを持っている。したがって、DNAチップの精度と得率の高いDNAチップの製造方法の開発が望まれている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記の背景に基づいて行われたものであって、DNAプローブのはり付けが確実に行われるDNAチップを得ることができるDNAチップ用基板、その製造方法、及びその基板を用いるDNAチップの製造方法を提示することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者は、前記従来技術の解決を要する弱点は、DNAプローブを基板上に微量滴下する前記第3の方法において、滴下された液滴の基板面方向への拡散にじみに対して無防備であることに原因しているとの認識から、その防護方法を鋭意検討した結果、本発明に到達した。すなわち、本発明は以下のとおりである。

【0009】1. 疎水性であって光又は熱の作用によって親水性となる表面を有する原板上に複数の親水性微小領域を配列させてなり、該親水性微小領域がDNAプローブを受容するセル領域を構成していることを特徴とするDNAチップ用基板。

【0010】2. 親水性微小領域の水に対する接触角が30度以下であって、かつ該微小領域を取り囲む疎水性表面の水に対する接触角よりも少なくとも40度低いことを特徴とする上記1に記載のDNAチップ用基板。

【0011】3. 表面が、 $TiO_2$ 、 $R TiO_3$  (Rはアルカリ土類金属原子)、 $AB_{2-x}C_xD_{3-x}E_xO_{10}$  (Aは水素原子又はアルカリ金属原子、Bはアルカリ土類金属原子又は鉛原子、Cは希土類原子、Dは周期律表の5A族元素に属する金属原子、Eは同じく4A族元素に属する金属原子、xは0~2の任意の数値を表す)、 $SnO_2$ 、 $ZrO_2$ 、 $Bi_2O_3$ 、 $ZnO$ 及び $FeO_y$  (y=1~1.5) で表される酸化鉄、から選ばれる金属酸化物の少なくとも一つによって構成されていることを特徴とする上記1又は2に記載のDNAチップ用基板。

【0012】4. 原板の疎水性表面に活性光の照射又は熱を印加を施すことによって該表面上に所定の大きさ形状を有する複数の配列した親水性微小領域を形成させることを特徴とするDNAチップ用基板の製造方法。

【0013】5. 親水性微小領域の形成が、光源と基板との間にフォトマスクを介してなされる活性光の照射、レーザー光の間歇発光による走査露光、熱ヘッドの走査による熱の印加及び光熱変換性の輻射線の照射のいずれかによって行われることを特徴とする請求項4に記載の

DNAチップ用基板の製造方法。

【0014】6. 原板の表面に疎水性有機化合物による処理を施した後、活性光の照射又は熱の印加によって親水性微小領域を形成させることを特徴とする請求項4又は5に記載のDNAチップ用基板の製造方法。

【0015】7. 疎水性であって光又は熱の作用によって親水性となる表面を有する原板上に複数の親水性微小領域を配列させたDNAチップ用基板を用い、該親水性微小領域にDNAプローブを受容させることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【0016】8. 原板上に配列した複数の親水性微小領域に、DNAプローブを含む液滴をインクジェット方式によって受容させることを特徴とする請求項7に記載のDNAチップの製造方法。

【0017】本発明は、前記1~8項に記したように、上記の機能を有するDNAチップ用基板、その製造方法、及びその基板を用いるDNAチップの製造方法の各発明からなる。以下の明細書中の本発明の説明において、DNAチップ上のDNAプローブがはり付けられた微小領域(マイクロ区画)をセル、DNAチップ作詞用の基板上のDNAプローブを受容してセルを形成するべき親水性微小領域をセル領域、基板の支持体となる板材料を原板と呼ぶこととする。

【0018】本発明の第一の要諦は、DNAチップ用基板に、予めDNAプローブを受容するべき各微小領域すなわち各セル領域を、その周囲よりも親水性にすることによって極性の差異によるマイクロ区画化を行なっていることである。このマイクロ区画化基板を用いてDNAプローブの液滴を各マイクロ区画内に受容させれば、周囲の疎水性領域が液滴を反発するので転写の際の液滴の滲み(横拡散)による転写エラーが防止され、しかも液滴を付与する際の液滴の位置のずれに対する許容度も拡大され、転写の正確度と得率を向上させることができる。したがって、高得率かつ高精度にDNAチップの製造が行われて、本発明の目的をみたすことができた。

【0019】本発明の第二の要諦は、上記の極性の差異に基づくマイクロ区画が付与されたDNAチップ用基板を製造するために、光触媒性の金属酸化物及び/又は熱の印加によって極性が変化する金属酸化物(熱応答性とも呼ぶ)からなる原板又は少なくとも該金属酸化物を表面に有する原板を用いたことである。光触媒性の金属酸化物は、活性光の照射を受けると疎水性から親水性に極性が変化する。したがって、DNAチップの各セルとなるべき基板上の領域すなわち前記定義のセル領域を親水性とするには、原板表面にセルの配列に対応した像様の活性光の照射を行なうことによって容易に行うことができる。また、熱応答性の金属酸化物は、特定の温度(高温親水性発現温度と呼ぶ)以上に加熱した場合に疎水性から親水性に極性が変化するので、基板のセル領域となるべき原板表面の領域を熱ヘッド又は光熱変換性の輻射光

などによって選択的に加熱して該領域を親水性領域に形成させることもできる。

【0020】本発明の特に好ましい態様は、液滴を各セル領域にはり付ける手段としてインクジェット方式を用いる態様である。すなわち、インクジェットプリンタにおけるインクに代えてDNAプローブを含む液を用い、各セル領域にDNAプローブを含む液滴を噴射すれば、DNAプローブのはりつけも迅速かつ容易でしかも液にじみのない正確なDNAチップの作製が可能となる。

【0021】本発明において、セル領域の親水性とは、DNAプローブの液滴を受容できる程度の親水性を意味しており、具体的には親水性領域の水に対する接触角が30度以下である。また、セル領域を取り巻く疎水性領域の疎水性は、親水性領域のDNAプローブの疎水性領域への拡散が実質的に抑止される程度の疎水性を意味しているのであって、セル領域と周囲の疎水性領域のそれぞれの水に対する接触角の差が40度以上であれば、本発明の基板用の基板材料では、通常特に疎水化処理を施す必要はない。

【0022】しかしながら、さらに転写の正確度を上げるためには、原板上にセル領域を形成する前に、基板を疎水性有機化合物に接触させることによって原板表面の疎水性を強化する方法が顕著な効果をあげる。予め原板表面の疎水性が強化されていても、そのあとで行なわれるセル領域の形成は効果的に行なわれて、セル領域の親水性度には実質的な影響は及ばない。疎水性有機化合物は、気体又は液体が好ましく、特に気体が十分な接触を果たす点で優れている。

【0023】

【発明の実施の形態】 I. 基板の作成方法

(金属酸化物) 本発明のDNAチップ用基板は、セル領域形成のために極性の差異に基づくマイクロ区画を付与できるように、光触媒性の金属酸化物及び／又は熱の印加によって極性が変化する金属酸化物(熱応答性金属酸化物とも呼ぶ)からなる原板又は該金属酸化物を表面に有するガラス板、金属板、プラスチック板などの原板から製造される。光触媒性の金属酸化物とは、光の照射を受けて親水性／疎水性の極性が変化する金属酸化物を指しており、極性を変化させる光を活性光と呼んでいる。また、熱の印加によって極性が変化する金属酸化物すなわち熱応答性金属酸化物は、光触媒性金属酸化物の中に比較的多く見られるが、光触媒性であるとは限らない。これらの金属酸化物は、セラミックや半導体のなかにも見られる。光触媒能を有する物質は、基底順位と伝導体が近い真正半導体と不純物準位に依存する酸化バナジウムや酸化銅などの仮性半導体との両方に見られる。

【0024】本発明に用いる光触媒能を有する金属酸化物は、いろいろの形態の金属酸化物に見られ、単一の金属酸化物、複合酸化物のいずれの場合もあり、また後者の場合は、固溶体、混晶、多結晶体、非晶質固溶体、金

属酸化物微結晶の混合物のいずれからこの特性を有するものが認められる。このような特性をもつ金属酸化物は、経験的に周期律表の0とVIIA(ハロゲン元素)族を除く第3～6周期に属する金属元素の酸化物に見いだされる。以下に述べる光触媒性の金属酸化物は、熱応答性でもあるが、一部の酸化鉄には、光触媒性ではないが、熱応答性のものもある。原板の製造においては、親水性／疎水性領域のマイクロ区画化を除いては両者は同じであるので、これらをまとめて記述する。なお、上記金属及び金属酸化物は、DNAチップとしての使用性から水に対する溶解度は、水100ミリリットルについて10mg以下、好ましくは5mg以下、より好ましくは1mg以下である。

【0025】光触媒能を有する金属酸化物の中でも、酸化チタンと酸化亜鉛は好ましく、これらについてまず説明する。これらは、いずれも本発明のDNAチップ用基板の作製用の原板に利用できる。特に酸化チタンが感度(つまり表面性の光変化の敏感性)などの点で好ましい。酸化チタンは、イルメナイトやチタンスラグの硫酸加熱焼成、あるいは加熱塩素化後酸素酸化など既知の任意の方法で作られたものを使用できる。

【0026】酸化チタン又は酸化亜鉛を含有する層を原板の表面に設けるには、たとえば、

①酸化チタン微結晶又は酸化亜鉛微結晶の分散物を原板上に塗設する方法、②塗設したのち焼成してバインダーを減量或いは除去する方法、③原板上に蒸着、スパッタリング、イオンプレーティング、CVDなどの方法で酸化チタン(又は酸化亜鉛)膜を設ける方法、④例えばチタニウムブトキシドのようなチタン有機化合物を原板上に塗布したのち、焼成酸化を施して酸化チタン層とする方法など、既知の任意の方法を用いることができる。本発明においては、真空蒸着又はスパッタリングによる酸化チタン層が特に好ましい。

【0027】上記①又は②の酸化チタン微結晶を塗設する方法には、具体的には無定形酸化チタン微結晶分散物を塗布したのち、焼成してアナターゼまたはルチル型の結晶酸化チタン層とする方法、酸化チタンと酸化シリコンの混合分散物を塗布して表面層を形成させる方法、酸化チタンとオルガノシロキサンなどとの混合物を塗布してシロキサン結合を介して支持体と結合した酸化チタン層を得る方法、酸化物層の中に酸化物と共存できるポリマーバインダーに分散して塗布したのち、焼成して有機成分を除去する方法などがある。酸化物微粒子のバインダーには、酸化チタン微粒子に対して分散性を有し、かつ比較的低温で焼成除去が可能なポリマーを用いることができる。好ましいバインダーの例としては、ポリエチレンなどのポリアルキレン、ポリブタジエン、ポリアクリル酸エステル、ポリメタクリル酸エステル、ポリ酢酸ビニル、ポリマロン酸ビニル、ポリエチレンテレフタレート、ポリエチレンナフタレート、ポリビニルアルコー

ル、部分鹸化ポリビニルアルコール、ポリスチレンなどの疎水性バインダーが好ましく、それらの樹脂を混合して使用してもよい。

【0028】上記③の酸化チタンの真空蒸着を行うには、例えば通常真空蒸着装置内の蒸着用加熱の熱源に金属チタンを置き、全ガス圧  $1.0 \times 10^{-2}$  Pa、酸素分圧比が 30～95% になるようにしながら、チタン金属を蒸発させると、蒸着面には酸化チタンの蒸着薄膜が形成される。また、スパッタリングによる場合は、例えばスパッタ装置内にチタン金属ターゲットをセットして Ar/O<sub>2</sub> 比が 60/40 (モル比) となるようにガス圧を  $5 \times 1.0 \times 10^{-1}$  Pa に調整したのち、RF パワー 200W を投入してスパッタリングを行って酸化チタン薄膜を原板上に形成させる。

【0029】一方、本発明に酸化亜鉛層を使用する場合、その酸化亜鉛層は既知の任意の方法で作ることができる。とくに金属亜鉛板の表面を電解酸化して酸化皮膜を形成させる方法と、真空蒸着、スパッタリング、イオンプレーティング、CVD などによって酸化亜鉛皮膜を形成させる方法が好ましい。酸化亜鉛の蒸着膜は、上記の酸化チタンの蒸着と同様に金属亜鉛を酸素ガス存在下で蒸着して酸化膜を形成させる方法や、酸素のない状態で亜鉛金属膜を形成させたのち、空气中で温度を約 700°C にあげて酸化させる方法を用いることができる。そのほか、修酸亜鉛の塗布層やセレン化亜鉛の薄層を酸化性気流中で加熱しても得られる。

【0030】酸化チタンはいずれの結晶形のものも使用できるが、とくにアナターゼ型のものが感度が高く好ましい。アナターゼ型の結晶は、酸化チタンを焼成して得る過程の焼成条件を選ぶことによって得られることはよく知られている。その場合に無定形の酸化チタンやルチル型酸化チタンが共存してもよいが、アナターゼ型結晶が 40% 以上、好ましくは 60% 以上含むものが上記の理由から好ましい。酸化チタンあるいは酸化亜鉛を主成分とする層における酸化チタンあるいは酸化亜鉛の体積率は、それぞれ 30～100% であり、好ましくは 50% 以上を酸化物が占めるのがよく、さらに好ましくは酸化物の連続層つまり実質的に 100% であるのがよい。しかしながら、表面の親水性/親油性変化特性は、酸化亜鉛を電子写真感光層に用いるときのような著しい純度による影響はないので、100% に近い純度のもの（例えば 98%）をさらに高純度化する必要はない。それは、本発明に利用される物性は、導電性とは関係ない膜表面の親水性/親油性の性質変化特性、すなわち界面物性の変化特性であることから理解できることである。

【0031】しかしながら、光的作用によって表面の親水性が変化する性質を増進させるためにある種の金属をドーピングすることは有効な場合があり、この目的にはイオン化傾向が小さい金属のドーピングが適しており、Pt, Pd, Au をドーピングするのが好ましい。ま

た、これらの好ましい金属を複数ドーピングしてもよい。ドーピングを行った場合も、その注入量は酸化亜鉛や酸化チタン中の金属成分に対して 5 モル% 以下である。

【0032】次に、本発明に用いることができる別の化合物である一般式  $RTiO_3$  で示したチタン酸金属塩について記す。一般式  $RTiO_3$  において、R はマグネシウム、カルシウム、ストロンチウム、バリウム、ベリリウムなどの周期律表のアルカリ土類元素に属する金属原子であり、とくにストロンチウムとバリウムが好ましい。また、2 種以上のアルカリ土類金属原子をその合計が上記の式に化学量論的に整合する限り共存することができる。

【0033】次に、一般式  $AB_{2-x}C_xD_{3-x}ExO_{10}$  で表される化合物について説明する。この一般式において、A は水素原子及びナトリウム、カリウム、ルビジウム、セシウム、リチウムなどのアルカリ金属原子から選ばれる 1 価原子で、その合計が上記の式に化学量論的に整合する限りそれらの 2 種以上を共存してもよい。B は、上記の R と同義のアルカリ土類金属原子又は鉛原子であり、同様に化学量論的に整合する限り 2 種以上の原子が共存してもよい。C は希土類原子であり、好ましくは、スカンジウム及びイットリウム並びにランタン、セリウム、プラセオジウム、ネオジウム、ホルミウム、ユウロピウム、ガドリニウム、テルビウム、ツリウム、イッテルビウム、ルテチウムなどのランタノイド系元素に属する原子であり、また、その合計が上記の式に化学量論的に整合する限りそれらの 2 種以上を共存してもよい。D は周期律表の 5 A 族元素から選ばれた一種以上で、バナジウム、ニオブ、タンタルが挙げられる。また、化学量論関係を満たす限り、2 種以上の 5 A 族の金属原子が共存してもよい。E は同じくチタン、ジルコニウム、ハフニウムなどの 4 A 族元素に属する金属原子であり、また、2 種以上の 4 A 族の金属原子が共存してもよい。x は 0～2 の任意の数値を表す。

【0034】 $RTiO_3$ 、一般式  $AB_{2-x}C_xD_{3-x}ExO_{10}$  で表される上記化合物、 $SnO_2$ ,  $ZrO_2$ ,  $Bi_2O_3$ ,  $FeO_y$  ( $y = 1 \sim 1.5$ ) で表される酸化鉄とくに  $Fe_2O_3$  のいずれの薄膜形成にも、酸化チタン及び酸化亜鉛を設ける前記の方法を用いることができる。すなわち、①上記光触媒性又は熱応答性金属酸化物の微粒子の分散物を原板上に塗設する方法、②塗設したのち焼成してバインダーを減量或いは除去する方法、③原板上に上記酸化物を各種の真空薄膜法で膜形成する方法、④例えば金属元素のアルコレートのような有機化合物を原板上に塗布したのち、加水分解させ、さらに焼成酸化を施して適当な厚みの金属薄膜とする方法、⑤上記金属を含む塩酸塩、硝酸塩などの水溶液を加熱スプレーする方法など、既知の任意の方法を用いることができる。

【0035】例えば、上記①、②の塗設方法によってチ

タン酸バリウム微粒子を塗設するには、チタン酸バリウムとシリコンの混合分散物を塗布して表面層を形成させる方法、チタン酸バリウムとオルガノポリシロキサンまたはそのモノマーとの混合物を塗布する方法などがある。また、酸化チタンの項で述べたように、酸化物層の中に酸化物と共存できるポリマーバインダーに分散して塗布した後、焼成して酸化物層とすることもできる。酸化物微粒子のバインダーとして好ましいポリマーの例は、酸化チタン層の項で述べたものと同じである。この方法によって、チタン酸バリウム以外にチタン酸マグネシウム、チタン酸カルシウム、チタン酸ストロンチウム又はそれらの分子間化合物、混合物も同様に薄膜形成可能である。

【0036】同様にして上記①、②の塗設方法によってCsLa<sub>2</sub>NbTi<sub>2</sub>O<sub>10</sub>微粒子を塗設することも可能である。CsLa<sub>2</sub>NbTi<sub>2</sub>O<sub>10</sub>微粒子は、その化学量論に対応するCs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、NbO<sub>5</sub>、TiO<sub>2</sub>を乳鉢で微粉碎して、白金ろつぽに入れ、130°Cで5時間焼成し、それを冷却してから乳鉢に入れて数ミクロン以下の微粒子に粉碎する。このCsLa<sub>2</sub>NbTi<sub>2</sub>O<sub>10</sub>微粒子を前記のチタン酸バリウムと同様にバインダーの中に分散し、塗布して薄膜を形成した。この方法は、CsLa<sub>2</sub>NbTi<sub>2</sub>O<sub>10</sub>型微粒子に限らず、HCa<sub>1.5</sub>La<sub>0.5</sub>Nb<sub>2.5</sub>Ti<sub>0.5</sub>O<sub>10</sub>、HLa<sub>2</sub>NbTi<sub>2</sub>O<sub>10</sub>など前記のAB<sub>2-x</sub>C<sub>x</sub>D<sub>3-x</sub>E<sub>x</sub>O<sub>10</sub>、(0 ≤ x ≤ 2)に適用される。

【0037】上記③の真空薄膜形成法を用いた光触媒性又は熱応答性金属酸化物層の形成方法としては、一般的にはスパッタリング法あるいは真空薄膜形成法が用いられる。スパッタリング法では、あらかじめ単一もしくは複合型の酸化物ターゲットを準備する。例えば、チタン酸バリウムターゲットを用いて蒸着膜用の基板の温度を450°C以上に保ち、アルゴン/酸素混合雰囲気中でRFスパッタリングを行うことによりチタン酸バリウム結晶薄膜が得られる。結晶性の制御には必要に応じてポストアニーリングを300~900°Cで行えばよい。本方法は前記のRTiO<sub>3</sub>(Rはアルカリ土類金属原子)をはじめ他の前記光触媒性又は熱応答性金属酸化物にも、結晶制御に最適な基板温度を調整すれば同様の考え方で薄膜形成が可能である。例えば酸化錫薄膜を設ける場合には基板温度120°C、アルゴン/酸素比50/50の混合雰囲気中でRFスパッタリングを行うことにより酸化錫結晶の本目的に沿う薄膜が得られる。

【0038】上記④の金属アルコレートを用いる方法も、バインダーを使用しないで目的の薄膜形成が可能な方法である。チタン酸バリウムの薄膜を形成するにはバリウムエトキシドとチタニウムブトキシドの混合アルコール溶液を表面にSiO<sub>2</sub>を有するシリコン基板上に塗布し、その表面を加水分解したのち、200°C以上に加熱してチタン酸バリウムの薄膜を形成することが可能

である。本方式の方法も前述した他のRTiO<sub>3</sub>(Rはアルカリ土類金属原子)、AB<sub>2-x</sub>C<sub>x</sub>D<sub>3-x</sub>E<sub>x</sub>O<sub>10</sub>(A, B, C, D, Eはそれぞれ前記の定義の内容を表す)、SnO<sub>2</sub>、ZrO<sub>2</sub>、SiO<sub>2</sub>、Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>及びFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の薄膜形成に適用することができる。

【0039】上記⑤によって光触媒性を発現する金属酸化物薄膜を形成させる方法も、バインダーを含まない系の薄膜の形成が可能である。SnO<sub>2</sub>の薄膜を形成するにはSnCl<sub>4</sub>の塩酸水溶液を200°C以上に加熱した石英又は結晶性ガラス表面に吹きつけて薄膜を生成することができる。本方式も、SnO<sub>2</sub>薄膜のほか、前述したRTiO<sub>3</sub>(Rはアルカリ土類金属原子)、AB<sub>2-x</sub>C<sub>x</sub>D<sub>3-x</sub>E<sub>x</sub>O<sub>10</sub>(A, B, C, D, Eはそれぞれ前記の定義の内容を表す)、Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>及びFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>のいずれの薄膜形成にも適用することができる。

【0040】金属酸化物薄膜の厚みは、上記のいずれの場合も0.1~10000nmがよく、好ましくは1~1000nmである。さらに好ましくは300nm以下として光干渉の歪みを防ぐのがよい。また、光触媒活性化作用を十分に発現させるには厚みが5nm以上あることが好都合である。

【0041】バインダーを使用した場合の上記光触媒性又は熱応答性金属酸化物の薄層において、金属酸化物の体積率は50~100%であり、好ましくは90%以上を酸化物が占めるのがよく、さらに好ましくは酸化物の連続層つまり実質的に100%であるのがよい。

【0042】(極性の差異によるマイクロ区画化) 本発明のDNAチップ用基板には、母体DNAチップ上の各セルと対応する領域が親水性に調整されていて、かつ該領域が疎水性領域に囲まれたセル領域を構成するようにマイクロ区画化が施されている。図1は、原板表面の各親水性領域の配列状態を示した模式図である。図1において、基板11は支持体である原板12とその表面に配列して親水性の微小領域として設けられたセル領域13からなっている。原板12上には、○印で示したDNAプローブがはり付けられた各セル15とDNAプローブがはり付けられるべき各親水性領域すなわち角セル領域13が点線○印で示され、それらが疎水性領域14上に配列している。図3は模式的に示したもので、セル領域の形状、分布密度、配列形態は図1の例に限定されるものではない。原板表面をマイクロ区画化するには、原板表面の母体DNAチップ上の各セルと対応する領域に選択的に活性光又は熱印加を行う方法が採られる。

【0043】<活性光照射によるマイクロ区画化>原板表面にセル領域を形成させるために照射される活性光の光源は、光触媒性金属化合物の感光域の波長の光、すなわち光吸収域に相当する波長の光を発する光源である。例えば光触媒性金属化合物が酸化チタンの場合では、アナターゼ型が387nm以下、ルチル型が413nm以下の紫外部に感光域を有している。したがって使用される



光源は、これらの波長領域の光を発する光源であり、主として紫外線を発する光源といえる。活性光の照射を受けた領域は、光触媒作用によって親水性となる。活性光の光触媒作用によって親水性領域の像様の分布を形成させる手段には、面露光方式、走査方式のいずれでもよい。

【0044】前者、すなわち面露光方式の場合は、一様な光を用いるが、原板上の母体DNAチップの各セルに対応する領域のみが活性光の照射を受けるようにフォトマスクを介して原板上に光照射して、照射された上記領域の表面を親水性化する方式である。面露光方式で活性光の照射を行うのに適した光源は、水銀灯、タングステンハロゲンランプ、その他のメタルハライドランプ、キセノン放電灯などである。

【0045】親水性とするための照射光量は、 $0.1 \sim 1000 \text{ J/cm}^2$ 、好ましくは $0.2 \sim 100 \text{ J/cm}^2$ 、より好ましくは $0.2 \sim 10 \text{ J/cm}^2$ である。また、光触媒反応には相反則が成立することが多く、例えば $10 \text{ mW/cm}^2$ で100秒の露光を行っても、 $1 \text{ W/cm}^2$ で1秒の露光を行っても、同じ効果が得られる場合も多く、このような場合には、活性光を発光する光源の選択の幅は広がる。

【0046】後者、すなわち走査式露光の場合には、走査される収斂光の原板上のビーム径が母体DNAチップの各セルに対応する領域に対応するサイズと形状の照射面を与えるように光学系が設定される。走査光源には、活性光を照射するレーザー光源が好ましく、活性光のビームを発振する公知のレーザーを用いることができる。例えば、レーザー光源として発振波長を $325 \text{ nm}$ に有するヘリウムカドミウムレーザー、発振波長を $351.1 \sim 363.8 \text{ nm}$ に有する水冷アルゴンレーザー、 $330 \sim 440 \text{ nm}$ に有する硫化亜鉛/カドミウムレーザーなどを用いることができる。さらに、紫外線レーザー、近紫外線レーザー発振が確認されている発振波長を $360 \sim 440 \text{ nm}$ に有する窒化ガリウム系の $\text{InGaN}$ 系量子井戸半導体レーザー、及び発振波長を $360 \sim 430 \text{ nm}$ に有する導波路 $\text{MgO-LiNbO}_3$  反転ドメイン波長変換型のレーザーを使用することもできる。レーザー出力が $0.1 \sim 300 \text{ W}$ のレーザーで照射をすることができる。描画に用いた遠紫外用の固体レーザーを画像変調しない状態で用いてもよい。また、パルスレーザーを用いる場合には、ピーク出力が $1000 \text{ W}$ 、好ましくは $2000 \text{ W}$ のレーザーを照射するのが好ましい。基板が透明である場合は、基板の裏側から支持体を通して露光することもできる。

【0047】＜熱の印加によるマイクロ区画化＞酸化チタンなどの光触媒性化合物をはじめ、温度を $250^\circ\text{C}$ 以上に高めると親水性となるいわゆる高温親水性の化合物は、活性光の照射光の代わりに上記の温度への加熱によって行ってもよい。加熱によるマイクロ区画化には、接触

加熱による方法と赤外線などの光熱変換性の輻射線の走査加熱による方法が挙げられる。

【0048】前者、すなわち接触加熱によって熱の印加を行ってマイクロ区画化を行う方式では、母体DNAチップ上の各セルと対応する原板上の領域が選択的に加熱されて親水性に極性変化され、かつ該領域の周辺には伝熱が無い様に加熱が行われるので、疎水性領域に囲まれた親水性領域が構成される。このような局部領域の加熱には、公知の任意の接触型熱記録装置、例えば熱融解型及び昇華型感熱色素転写法の熱記録ヘッドが用いられる。それらは、単一の熱記録素子を二次元に駆動させる方式、熱記録素子を線状に配列したアレイを直角方向に走査して描画する方式あるいは二次元配列した記録素子を用いる高速描画方式など公知の熱記録素子を用いることができる。

【0049】後者、すなわち赤外線などの輻射線の走査加熱の方式では、原板上に光熱変換体を設けておいて、輻射線の照射光を吸収して熱に変換させる。原板上に担持させることができる光熱変換体であれば、いずれの光熱変換体を用いてもよいが、好ましい光熱変換体は、銀微粒子やカーボンブラックなどの炭素微粒子である。銀微粒子は、市販のコロイド状銀粉末をポリビニルアルコールやゼラチンなどの分散媒水溶液に分散させた分散液で基板を処理する方法によって、基板表面上に担持させることができるほか、基板に対して硝酸銀水溶液への浸漬処理と、アスコルビン酸の中性又はアルカリ水溶液やフェーリング溶液などの還元剤水溶液への浸漬処理とを続けてまたは同時に行なうことによって原板上に銀微粒子を担持させることができる。好ましい銀微粒子の大きさは、 $0.1 \sim 10000 \text{ nm}$ がよく、好ましくは $5 \sim 1000 \text{ nm}$ 、より好ましくは $20 \sim 200 \text{ nm}$ である。また、炭素微粒子の中で好ましいのは、いわゆるカーボンブラックであり、カーボンブラックは粒子サイズが $1 \sim 10 \text{ nm}$ 、多くは $2 \sim 5 \text{ nm}$ 程度の微粒子が葡萄房状に会合して光吸収能を極度に高めた形態をとっている。したがって、いずれも光熱変換効率が著しく高いので、DNAチップ用基板としての特性を損なうことなく光熱変換性を基板に付与することができる。

【0050】輻射線照射による親水化は、上記の熱印加による親水化の熱の印加を光熱変換体と輻射線の照射の組み合わせに代えたもので、原理的には熱の作用に基づく親水性化という点で同じである。好ましい輻射線光源は、赤外線灯、ハロゲン・タングステン灯、赤外線を放射する固体レーザー又は赤外線域の光を放射する半導体レーザー、大容量コンデンサーからの放電によってフラッシュ光を発する光・熱変換発熱装置などが用いられる。また、光熱変換体の種類によっては、赤外線に限定されず、光熱変換体が効果的に吸収する波長域の可視域光線、たとえばキセノン放電灯や可視域の光を放射する半導体レーザーも用いられる。



【0051】特に好ましい熱源は、赤外線を放射する固体レーザー、又は赤外線域や可視域の光を放射する半導体レーザー、赤外線灯、キセノン放電灯、大容量コンデンサーからの放電による間歇フラッシュ発光装置であり、これらの光源からの光は趣向装置によって原板上の親水性化させるべき領域に収斂光として照射される。

【0052】輻射線の走査によるマイクロ区画化方式の場合に、とくに好ましいのは、赤外線レーザー光源を使用して、レーザービームで母体チップの各セルに対応する原板上の各領域を走査する方式が行われる。好ましいレーザー光源の例として、近赤外線、赤外線の成分の多い半導体レーザー、ガスレーザー、ヘリウムカドミウムレーザー、YAGレーザーを挙げることができる。レーザー出力が0.1～300Wのレーザーで照射をすることができる。また、パルスレーザーを用いる場合には、ピーク出力が1000W、好ましくは2000Wのレーザーを照射するのが好ましい。

【0053】かくして、原板上にDNAチップの各セルを形成するべき配列した微小親水性領域とそれを取り巻く疎水性領域からなる極性変化のパターン構造が付与されて本発明のDNAチップ用基板が出来上がる。

#### 【0054】II. DNAチップの作製

上記した方法で作製されたDNAチップ用基板を用いてDNAチップを作製される。図1において、基板11に設けられたセル領域にDNAプローブが受容されてセルを形成し、DNAチップが出来あがるのであるが、セル領域にDNAプローブを受容させる方法は、プローブをマイクロピペットや注射針で注液、インクジェット方式でプローブの液滴を吐出など、セル領域にプローブをはり付け可能のいずれの方法をもとることが出来る。この中でも好ましい方法としてインクをプローブ含有液に代えたインクジェット方式が挙げられる。以下は、インクジェット方式を中心に図2及び図3を用いて説明する。図2は、基板11にDNAプローブが受容されるプロセスを模式的に示す説明図である。図2において、DNAプローブの受容されるプロセスが左から右へ順次示されている。すなわち、図2の左端では、親水性のセル領域13と疎水性の周辺領域14からなる原板表面を示しており、その右にはセル領域13にDNAプローブの液滴16が吐出された状態を示し、さらにその右には、液滴が消滅してDNAプローブがセル領域に広がって液膜を形成していくことを点線16'と点線15'で示した。さらにその右は、セル領域全面にDNAプローブ液膜が受容されてセル15を構成したことを示している。セル15において液膜と疎水性の周辺領域14との境界は液の広がりには疎水性の障壁のために抑止され、液にじみや隣接セルとの交じり合いが起こらず、精度の高いDNAチップが作製される。このとき、液滴16が吐出される位置がセル領域内で多少変位しても周辺領域14の疎水性の障壁が強固であるために液滴から広がった液膜

はセル領域内にとどまる。

【0055】図3は、液滴をセル領域に向けて吐出するインクジェット方式のDNAプローブはり付け装置の一態様を示すものであって、本発明はこの態様に限定されるものではない。図3は、DNAチップを基板上に吐出してセルを形成させるためのDNAチップ製造装置であって、DNAチップの液滴16を基板11上のセル領域13に吐出可能に構成されたインクジェット式液滴吐出ヘッド2と、インクジェット式液滴吐出ヘッド2と基板11上との相対位置を変更可能に構成される駆動手段4と、インクジェット式液滴吐出ヘッド2からのDNAプローブ液滴16の吐出および駆動手段4による駆動を制御信号Shによって制御する制御手段3と、を備える。そして制御手段3は、特定DNAプローブをはり付けるべきセル領域に特定DNAプローブ液滴16が吐出されてセルとなるようにインクジェット式液滴吐出ヘッド2と基板11上との相対位置を制御し、つづいて特定のセル領域13にインクジェット式液滴吐出ヘッド2から制御信号Shに従ってDNAプローブ液滴16を吐出させる。セル領域13は、液滴を受容してセル15となる。

【0056】インクジェット式液滴吐出ヘッド2には、DNAプローブ10が入れられたDNAプローブ貯留槽22がパイプ23を介してDNAプローブ10を供給可能に接続されている。DNAプローブ10としては、DNAチップの設計に従って吐出先のセル領域に応じて種類が変えられる。また、DNAプローブのはり付け工程の効率化のために、DNAプローブ貯留槽ーインクジェット式液滴吐出ヘッドの組は、複数備えられていてもよい。

【0057】インクジェット式液滴吐出ヘッドの液滴噴射方式としては、圧電体素子、例えばPZT素子等を上部電極および下部電極で挟んだ構造を有してDNAプローブ液容積に体積変化を生じさせて液滴を吐出させる構成のもの、発熱体によりDNAプローブを加えてその熱による膨張によって液滴を吐出させるようなヘッド構成のもの、あるいは発熱体又は電圧印加によるスパークによって気化を起こさせてそれに伴う圧力によって液滴を吐出させるようなヘッド構成のもの、など公知のインクジェット方式を選択することが出来る。

【0058】駆動機構4は、モータM1、モータM2および図示しない機構構造を備えており、インクジェット式液滴吐出ヘッド2とともに、X軸方向(図3の横方向)およびY軸方向(図3の奥行き方向)に搬送可能に構成されている。モータM1は駆動信号Sxに応じてインクジェット式液滴吐出ヘッド2をX軸方向に搬送可能に構成される。モータM2は駆動信号Syに応じてインクジェット式液滴吐出ヘッド2をY軸方向に搬送可能に構成される。

【0059】なお、駆動機構4は基板11に対するインクジェット式液滴吐出ヘッド2の位置を相対的に変化可

能な構成を備えていれば十分である。このため上記構成の他に、基板 11 がインクジェット式液滴吐出ヘッド 2 に対して動くものであっても、インクジェット式液滴吐出ヘッド 2 と、基板 11 とがともに動くものであってもよい。

【0060】なお、以上の説明は、本発明の説明および例示を目的として特定の好適な実施例を示したに過ぎない。したがって本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。

【0061】III. 原板の非セル領域の疎水性強化処理  
本発明の上記した DNA チップの製造方法において、基板の各セル領域の親水性と該領域の周辺の疎水性とによって DNA プローブの液滴の拡散にじみが抑止されて正確な DNA プローブのはりつけがなされる。ここで、DNA チップ用基板の各セル領域を取り巻く部分の疎水性を原板の段階で強化しておいて、その原板にセル領域を形成させて基板を作ると、さらに液にじみや液汚れが抑止されて一層確実な DNA チップの作製が行われる。疎水性強化処理は原板表面のマイクロ区画形成に先だって疎水性物質を原板表面に接触させて行われる。疎水性強化処理が行なわれても、活性光の照射又は熱の印加をうけると疎水性有機化合物のほとんどは炭酸ガスと水に変化して表面の疎水性層が消滅するので、疎水性強化処理の後に形成されるセル領域の親水性の程度には影響を与えることなく、非セル領域のみが選択的に疎水化される。

【0062】以下に、原板の疎水性強化処理の非セル領域の疎水性強化処理を説明する。疎水性強化手段としては、原板表面へ疎水性物質（疎水化剤とも呼ぶ）の塗り付け処理、スプレー処理、気化・凝縮法、気体接触法、浸漬処理など公知のいずれの方法、方式をも用いることができる。しかしながら、簡易である点で、気体接触法が好ましい。気体接触法は、例えば空気恒温槽内に有機化合物気体を導入したり、揮発性の有機化合物を導入して槽内を加温して行うなどを挙げられる。

【0063】＜疎水性強化の方法＞

a. 塗り付け処理は、液体及び固体状の疎水化剤に適用できる疎水層の付与方法であり、疎水化剤が液体の場合は、直接塗り付けてもよく、また固体の場合や、液体であっても場合により、適当な溶剤に溶解あるいは分散したりして液状として塗り付け処理を行う。

【0064】塗り付け処理の方法としては、グラビア塗布、リバース塗布、ホッパー塗布、スリット塗布などの塗布現像方式など公知の方法が適用できる。また、疎水化剤を担持した媒体を介して原板上に塗り付け皮膜を形成させるシート処理が好ましい方式の一つである。この方法には特登 2655337 号に記載の方法を挙げることができる。疎水化剤を担持する媒体には、フェルト、織物、スリットや細孔を有する金属などを用いることができる。この中でも特開平 8-290088 号、同 8-

290087 号、同 9-138493 号公報に記載されているスポンジなどによる処理液塗り付けの方法を好ましく適用できる。

【0065】塗り付け処理の好ましい塗り付け量は、セルの周辺が少なくともより疎水化する量であればよく、疎水化剤の濃度などによって異なるが、通常  $10 \sim 100 \text{ ml/m}^2$ 、好ましくは  $15 \sim 50 \text{ ml/m}^2$  である。

【0066】b. スプレー処理

10 スプレー処理すなわち噴霧処理は、塗り付け処理に記したと同様に液状あるいは分散液状にした疎水化剤又は疎水化剤溶液を原板表面に噴霧することによって疎水化を行う方法である。また、噴霧液量を必要供給液量以上として適用表面を流下する余分の疎水化剤あるいは疎水化剤溶液を循環させて再利用してもよい。疎水化剤あるいは疎水化剤溶液の噴霧方法、方式、ノズルの数や形状を問わず、また単一の可動ノズルを移動させながら噴霧しても、複数の固定ノズルを用いて噴霧してもよい。また、原板又は母体 DNA チップを固定してノズルを移動させながら噴霧しても、ノズルを固定して原板又は母体 DNA チップを移動させながら噴霧してもよい。このなかでも特開平 8-123001 号、同 9-160208 号、同 9-179272 号公報に記載されている疎水化剤あるいは疎水化剤溶液を噴射する複数のノズル孔が一定の間隔で原板の搬送方向と交差する方向に沿って直線状に並べられたノズルとこのノズルを搬送経路上の原板に向かって変移させるアクチュエーターとを有する疎水化剤塗り付け装置によって疎水化剤あるいは疎水化剤溶液を噴霧する方法がとくに好ましい。本発明の方法に適用されるインクジェット方式の疎水性強化には、静電吐出型に限らず公知のインクジェットプリンターを使用することができる。

【0067】c. 気化・凝縮法

気体接触法は、昇華性の固体疎水化剤あるいは揮発性の疎水化剤や蒸発しやすい疎水化剤溶液を加熱して気化し、原板又は母体 DNA チップ表面に接触させて疎水化剤の皮膜を凝縮形成させる方法である。この方法に好都合な効果をもつ好ましい有機化合物は、沸点が  $30 \sim 200^\circ\text{C}$  にあって、かつ  $30 \sim 100^\circ\text{C}$  の温度範囲で安定な有機化合物であり、中でも好ましい沸点範囲は  $50 \sim 100^\circ\text{C}$  である。

【0068】d. 気体接触法

疎水化剤が気体の場合、とくに前記したフッ素含有有機化合物の場合には、印刷原板をこの気体を含んだ雰囲気の中に置くことによって高度の疎性強化を行うことができる。

【0069】e. 浸漬法

浸漬槽を設けて印刷原板を浸漬する方法も用いることができる。

【0070】＜疎水化剤＞本発明において、「疎水性」

とは、原板上で水滴接触角が40度以上、好ましくは60度以上であって、セル領域の水滴接触角よりも40度以上高いことを意味する。このような疎水化剤の要件に適合する化合物は、有機低分子化合物、有機珪素化合物の中に見いだされる。

#### 【0071】1) 有機低分子化合物

疎水化剤として本発明に用いられる有機低分子化合物は、有機概念図における有機性/無機性の比が0.7以上である有機低分子化合物で、ここで、低分子化合物と呼んでいるのは沸点又は融点を有する化合物という意味で用いており、そのような化合物を通常分子量は2000以下、多くは1000以下である。

【0072】有機概念図における有機性/無機性比が0.7以上の有機低分子化合物は、具体的には脂肪族及び芳香族炭化水素、脂肪族及び芳香族カルボン酸、脂肪族及び芳香族アルコール、脂肪族及び芳香族エステル、脂肪族及び芳香族エーテル、有機アミン類、有機珪素化合物、また、印刷用インキに添加できることが知られている各種溶剤や可塑剤類の中に見られる。

【0073】好ましい脂肪族炭化水素は、炭素数8~30の、より好ましくは炭素数8~20の脂肪族炭化水素であり、好ましい芳香族炭化水素は、炭素数6~40の、より好ましくは炭素数6~20の芳香族炭化水素である。好ましい脂肪族アルコールは、炭素数4~30の、より好ましくは炭素数6~18の脂肪族アルコールであり、好ましい芳香族アルコールは、炭素数6~30の、より好ましくは炭素数6~18の芳香族アルコールである。好ましい脂肪族カルボン酸は、炭素数4~24の脂肪族カルボン酸であり、より好ましくは炭素数6~20の脂肪族モノカルボン酸及び炭素数4~12の脂肪族ポリカルボン酸であり、また、好ましい芳香族カルボン酸は、炭素数6~30の、より好ましくは炭素数6~18の芳香族カルボン酸である。好ましい脂肪族エステルは、炭素数2~30の、より好ましくは炭素数2~18の脂肪酸エステルであり、好ましい芳香族エステルは、炭素数8~30の、より好ましくは炭素数8~18の芳香族カルボン酸エステルである。好ましい脂肪族エーテルは、炭素数8~36の、より好ましくは炭素数8~18の芳香族エーテルであり、好ましい芳香族エーテルは、炭素数7~30の、より好ましくは炭素数7~18の芳香族エーテルである。そのほか、炭素数7~30の、より好ましくは炭素数7~18の脂肪族あるいは芳香族アミドも用いることができる。

【0074】具体例としては、2, 2, 4-トリメチルペンタン (イソオクタン)、n-ノナン、n-デカン、n-ヘキサデカン、オクタデカン、エイコサン、メチルヘプタン、2, 2-ジメチルヘキサン、2-メチルオクタンなどの脂肪族炭化水素；ベンゼン、トルエン、キシレン、クメン、ナフタレン、アントラセン、スチレンなどの芳香族炭化水素；ドデシルアルコール、オクチルア

ルコール、n-オクタデシルアルコール、2-オクタノール、ラウリルアルコール1価アルコール；ヘキシレングリコール、ジプロピレングリコールなどの多価アルコール；ベンジルアルコール、4-ヒドロキシトルエン、フェネチルアルコール、1-ナフトール、2-ナフトール、カテコール、フェノールなどの芳香族アルコール；酪酸、カプロン酸、アクリル酸、クロトン酸、カプリン酸、ステアリン酸、オレイン酸などの脂肪族1価カルボン酸；安息香酸、2-メチル安息香酸、4-メチル安息香酸などの芳香族カルボン酸；酢酸エチル、酢酸イソブチル、酢酸n-ブチル、プロピオン酸メチル、プロピオン酸エチル、酪酸メチル、アクリル酸メチル、しゅう酸ジメチル、琥珀酸ジメチル、クロトン酸メチルなどの脂肪族エステル；安息香酸メチル、2-メチル安息香酸メチルなどの芳香族カルボン酸エステル；イミダゾール、2, 2-ジメチルイミダゾール、4-メチルイミダゾール、インダゾール、ベンゾイミダゾール、シクロヘキシルアミン、ヘキサメチレントトラミン、トリエチレントトラミン、オクチルアミン、フェネチルアミンなどの有機アミン；メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、ベンゾフェノンなどのケトン類、メトキシベンゼン、エトキシベンゼン、メトキシトルエン、ラウリルメチルエーテル、ステアリルメチルエーテルなどのエーテル及びステアリルアミド、ベンゾイルアミド、アセトアミドなどのアミド類が挙げられる。そのほか、沸点が前記の好ましい範囲にあるエチレングリコールモノエチルエーテル、シクロヘキサノン、ブチルセロソルブ、セロソルブアセテートなどの有機溶剤も使用することができる。

【0075】また、印刷用インキの成分であるアマニ油、大豆油、けし油、サフラワー油などの油脂類、燐酸トリブチル、燐酸トリクレシル、フタル酸ジブチル、ラウリン酸ブチル、フタル酸ジオクチル、パラフィンワックスなどの可塑剤も挙げられる。

【0076】また、長鎖脂肪酸と長鎖1価アルコールのエステル、すなわちワックスも、疎水性で適当に低融点であって、光熱変換性の微粒子の近傍で光照射によって生じた熱によって融解してその領域を疎水性化する好ましい低分子有機化合物である。ワックスは、50~200°Cで熔融するものが好ましく、その例としては、原料などによってカルナバワックス、カスターワックス、マイクロクリスタリンワックス、パラフィンワックス、セラックろう、パームろう、蜜ろう等と呼ばれているいずれをも用いることができる。ワックス類のほかに、オレイン酸、ステアリン酸、パルミチン酸などの固体酸；ベヘン酸銀、ステアリン酸カルシウム、パルミチン酸マグネシウムなどの長鎖脂肪酸の金属塩などの微粒子分散物も用いることができる。

【0077】有機低分子化合物の中でもペルフルオロ化合物は、疎水化を効果的に行うので好都合である。好ま

しいペリフルオロ化合物としては、下記の化合物が挙げられる。ペルフルオロ酢酸、ペルフルオロ酪酸、ペルフルオロバレリン酸、ペルフルオロカプリン酸、ペルフルオロヘブタン酸、ペルフルオロカブロン酸、ペルフルオロカプリル酸などのペルフルオロ脂肪族カルボン酸；ペルフルオロヘキサン、ペルフルオロオクタン、ペルフルオロトリプロピルアミン、ペルフルオロトリブチルアミン、ペルフルオロヘキシルエーテル、ペルフルオロドデカンなどのペリフルオロ炭化水素；ペルフルオロブタノール、ペルフルオロペンタノール、ペルフルオロヘキサノール、ペルフルオロオクタノール、ペルフルオロドデシルアルコールなどのペリフルオロ脂肪族アルコール。

#### 【0078】2) 有機珪素化合物

好ましい有機珪素化合物は、印刷基板の親水・親油材料を含有する層の表面を効果的に疎水化する疎水化剤である。この目的に用いられる有機珪素化合物としては、オルガノポリシロキサン、オルガノシラン及びフッ素含有珪素化合物を挙げることができる。

##### a. オルガノポリシロキサン

10    リ    オルガノポリシロキサンは、ジメチルシリコーンオイル、メチルフェニルシリコーンオイルなどで代表される化合物であり、とくに重合度が12以下のオルガノポリシロキサン類が好ましい。これらの好ましいオルガノポリシロキサンはシロキサン結合単位当たり1~2個の有機基が結合しており、その有機基は、炭素数が1~18のアルキル基及びアルコキシ基、炭素数が2~18のアルケニル基及びアルキニル基、炭素数が6~18のアリール基、炭素数が7~18のアラルキル基、炭素数が5~20の脂環式基である。また、これらの有機置換基には、さらにハロゲン原子、カルボキシル基、ヒドロキシ基が置換してもよい。また、上記のアリール基、アラルキル基、脂環式基には、上記の炭素数の範囲でメチル基、エチル基又はプロピル基などの低級アルキル基がさらに置換していてもよい。

【0079】本発明に使用できる好ましい有機珪素化合物の具体例は、下記の化合物であるが、本発明はこれらに限定されるものではない。好ましいポリオルガノシロキサン類としては、①炭素数1~5のアルキル基を有するジアルキルシロキサン基、②炭素数1~5のアルコキシ基を有するジアルコキシシロキサン基、③炭素数1~5のアルコキシ基とフェニル基を有するアルコキシフェニルシロキサン基及び④エトキシメトキシシロキサン基又はメトキシエトキシシロキサン基のうち、少なくとも一つを繰り返し単位として含み、重合度が2~12、より好ましくは2~10のポリオルガノシロキサンである。また、その末端基は、炭素数1~5のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシ基、炭素数1~5のヒドロキアルキル基又は炭素数1~5のアルコキシ基である。より好ましい末端基は、メチル基、エチル基、イソプロピル基、n-プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基、メ

トキシ基及びエトキシ基である。その中でも好ましいシロキサン化合物は、重合度が2~10のジメチルポリシロキサン、重合度が2~10のジメチルシロキサン-メチルフェニルシロキサン共重合物、重合度が2~8のジメチルシロキサン-ジフェニルシロキサン共重合物、重合度が2~8のジメチルシロキサン-モノメチルシロキサン共重合物でこれらのポリシロキサン化合物の末端はトリメチルシラン基である。そのほか、1, 3-ビス(3-アミノプロピル) テトラメチルジシロキサン、1, 5-ビス(3-アミノプロピル) ヘキサメチルトリシロキサン、1, 3-ジブチル-1, 1, 3, 3-テトラメチルジシロキサン、1, 5-ジブチル-1, 1, 3, 3, 5, 5-ヘキサエチルトリシロキサン、1, 1, 3, 3, 5, 5-ヘキサエチル-1, 5-ジクロロトリシロキサン、3-(3, 3, 3-トリフルオロプロピル)-1, 1, 3, 3, 5, 5, 5-ヘプタメチルトリシロキサン、デカメチルテトラシロキサンなどが挙げられる。

【0080】特に好ましい汎用化合物として、いわゆるシリコーンオイルがあり、ジメチルシリコーンオイル(市販品では、例えばシリコーンKF96(信越化学工業(株)製)、メチルフェニルシリコーンオイル(市販品では、例えばシリコーンKF50(信越化学工業(株)製)、メチルハイドロジェンシリコーンオイル(市販品では、例えばシリコーンKF99(信越化学工業(株)製)が挙げられる。

##### 【0081】b. オルガノシラン

疎水化剤として用いることができるオルガノシラン化合物としては、n-デシルトリメトキシシラン、n-デシルトリ-t-ブトキシシラン、n-オクタデシルトリメトキシシラン、n-オクタデシルトリエトキシシラン、ジメトキシジエトキシシランなどのシラン化合物も挙げられる。

##### 【0082】c. フッ素含有有機珪素化合物

フッ素含有有機基を置換基として有するシラン、シラノール及びシロキサン化合物も疎水化剤として用いることができる。好ましいフッ素含有有機珪素化合物には、ポリフルオロアルキル基(3, 3, 3-トリフルオロプロピル基、トリフルオロメチル基、トリフルオロブチル基、トリフルオロエチル基、トリフルオロペンチル基、3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6, 6-ノナフルオロヘキシル基)、トリフルオロアシル基(トリフルオロアセトキシ基、2, 2, 2-トリフルオロエトキシ基)、トリフルオロアルキル基(トリフルオロアセチル基)、トリフルオロアルキルスルホン基(トリフルオロメタンスルホン基、3, 3, 3-トリフルオロプロピルスルホン基)を有機置換基として有するシラン、シラノール及びシロキサン化合物が挙げられる。

【0083】具体例としては、メチル-3, 3, 3-トリフルオロプロピルジクロロシラン、トリメチルシリル

トリフルオロメタンスルフォネート、トリフルオロアセトキシトリメチルシラン、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルトリクロロシラン、ジメトキシメチルー3、3、3-トリフルオロプロピルシラン、3、3、3-トリフルオロプロピルシラントリメトキシシラン、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルメチルジクロロシラン、3-トリフルオロアセトキシトリメトキシシラン、1、3、5-トリス（3、3、3-トリフルオロプロピル）-1、3、5-トリメチルシクロトリシロキサン、1、3、5、7-テトラキス（3、3、3-トリフルオロプロピル）-1、3、5、7-テトラメチルシクロテトラシロキサン、1、1、3、5、5-ペンタ（3、3、3-トリフルオロプロピル）-1、3、5-トリメチルトリシロキサン、1、1、3、5、7、7-ヘキサ（3、3、3-トリフルオロプロピル）-1、3、5、7-テトラメチルテトラシロキサン、メチルー3、3、3-トリフルオロプロピルシランジオール、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルシラントリオール、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルメチルシランジオール、ペンタフルオロエトキシシラントリオール、トリフルオロメチルシラントリオール、3、3、3-トリフルオロプロピルオトキシシラントリオール。

【0084】好ましい化合物は、メチルー3、3、3-トリフルオロプロピルジクロロシラン、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルトリクロロシラン、3、3、3-トリフルオロプロピルシラントリメトキシシラン、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルメチルジクロロシラン、1、3、5-トリス（3、3、3-トリフルオロプロピル）-1、3、5-トリメチルシクロトリシロキサン、メチルー3、3、3-トリフルオロプロピルシランジオール、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルシラントリオール、3、3、4、4、5、5、6、6、6-ノナフルオロヘキシルメチルシランジオール、ペンタフルオロエトキシシラントリオール、トリフルオロメチルシラントリオール、3、3、3-トリフルオロプロピルオトキシシラントリオール。これらの有機珪素化合物は、市販されており、たとえば信越化学工業（株）から入手できる。又は入手したクロロシランを加水分解してシラノールとしたり、あるいは、加水分解縮合によってポリオルガノシロキンを合成できる。

【0085】疎水化剤は、有機低分子化合物のみ、有機珪素化合物のみ、あるいはそれらの混合物でもよく、さらに両者の親和性を高めるなどの目的の第3成分を含んでいてもよい。

【0086】疎水化剤は、溶液や分散液とするためにエチレングリコールモノエチルエーテル、シクロヘキサノ、メチルセロソルブ、ブチルセロソルブ、セロソルブ

アセテート、1、4-ジオキサン、ジメチルホルムアミド、アクリロニトリルなどの有機溶剤に混合又は分散して使用することもできる。

#### 【0087】

【実施例】以下、実施例によって本発明の実施の形態をさらに示すが、本発明はこれらに限定されない。

【実施例1】石英ガラスの原板を真空蒸着装置内に入れて、全圧 $2.0 \times 10^{-2}$  Paになるように分圧70%の酸素ガスの条件下でチタン金属片を電熱加熱して、ガラス原板上に蒸着により酸化チタン薄膜を形成させた。この薄膜の結晶成分はX線解析法によって無定型/アナターゼ/ルチル結晶構造の比が1.5/6.5/2であり、TiO<sub>2</sub>薄膜の厚さは200 nm（2000オングストローム）であった。原板表面の水に対する接触角をContact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で表面の水に対する接触角を測定したところ、いずれの部分も48~55度の間にあった。

【0088】次いで、作製されるべきDNAチップのセルのサイズ及び配列と同じサイズ及び配列の透過部パターンを有するフォトマスクを上記のチタン蒸着膜を施した原板上に密着して重ね、US10焼き付け用光源装置ユニレックURM600形式GH60201X（ウシオ電気工業（株）製）を用いてフォトマスクを通して原板表面に光強度50 mW/cm<sup>2</sup>のもので10秒間の活性光照射を行なって、DNAチップ用基板を作製した。基板表面のセル領域すなわち照射領域の水に対する接触角をContact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で測定したところ、いずれのセル領域も7~9度の間にあった。

【0089】この基板を用いて、図3を用いて前記した装置によって、DNAプローブ貯留槽22にDNAプローブ10を貯留し、そのDNAプローブ10をパイプ23を介してインクジェット式液滴吐出ヘッド2に導き、制御回路3からの制御信号によって原板11上のセル領域13に、DNAプローブ10の液滴16を吐出させてセルを形成させた。DNAチップの設計に従って吐出先のセル領域に応じてDNAプローブの種類を変えて上記のDNAプローブのはり付け操作を繰り返して行なった。DNAプローブがセル領域からはみ出ることなく、正確で精度の優れたDNAチップを、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0090】【実施例2】石英ガラス板を真空蒸着装置中にセットして全圧0.01 Paの真空下で垂鉛を100 nm（1000オングストローム）の厚みに蒸着した。これを空気中600°Cで2時間酸化処理してガラス板の片面に酸化亜鉛の薄膜を形成させた。この酸化亜鉛薄膜付き原板を用いた以外は実施例1と同様にしてDNAチップ用基板を作製した。Contact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で測定した基板表面の照射領域の水に対する接触角は、いずれ

も 7~9 度の間にあり、非照射領域は、52~55 度であった。

【0091】この基板を用いて、実施例 1 と同じインクジェット方式で DNA チップを精度よく、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0092】〔実施例 3〕市販の厚み 200 ミクロンのポリイミドフィルム（商品名カプトン、東レ・デュボン社製）を  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  の化学量論比に相当するセシウムエトキシド、チタンブトキシド、ランタンイソブトキシド、ニオブエトキシドを含む 20% のエタノール溶液に浸漬して表面を加水分解したのち 280°C に加熱してポリイミドフィルム支持体表面に  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  の厚み 100 nm（1000 オングストローム）の薄膜を形成させた。この  $\text{CsLa}_2\text{NbTi}_2\text{O}_{10}$  薄膜付きのフレキシブル原板を用いた以外は実施例 1 と同様にして DNA チップ用基板を作製した。Contact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で測定した基板表面の照射領域の水に対する接触角は、いずれも 7~9 度の間にあり、非照射領域は、52~55 度であった。

【0093】この基板を用いて、実施例 1 と同じインクジェット方式で DNA チップを精度よく、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0094】〔実施例 4〕実施例 1 において、活性光の照射をユニレックス URM600 によって面露光方式で行う代わりに、ヘリウムカドミウムレーザーを用いて走査露光によって行なった。照射に用いたヘリウムカドミウムレーザーは、発振波長を 325 nm に有しており、レーザーの照射面におけるビーム半径、及び発振間隔と走査速度を制御して、照射スポットが母体 DNA チップとセルのサイズ及び配列が一致するようにして照射を行なった。

【0095】レーザー光の照射条件は下記の通りである。

レーザー出力 : 200 mW  
ビーム半径 : 50.0  $\mu\text{m}$   
走査速度 : 1.7 m/sec  
出力 : 700 mJ/cm<sup>2</sup>  
発光間隔 : 7  $\mu\text{sec}$

Contact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で測定した基板表面の照射領域の水に対する接触角は、いずれも 7~9 度の間にあり、非照射領域は、52~55 度であった。

【0096】この基板を用いて、実施例 1 と同じインクジェット方式で DNA チップを精度よく、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0097】〔実施例 5〕実施例 3 で作製したフレキシブルフィルム支持体付きの原板を熔融型熱転写装置を用いて、複製すべき加熱スポットのサイズと配列が、作製されるべき DNA チップのセルのサイズ及び配列が一

致するようにして局部加熱を行なった。すなわち、ワークステーション（感熱プリンタ）でフレキシブルフィルム上に複製すべき親水性領域（加熱部）と疎水性領域（非加熱部）の繰り返しを電氣的画像信号に変換して感熱ヘッドを駆動させて原板表面に母体チップのセルの形状及びサイズに対応したスポット状の接触加熱を行なった。感熱プリンターは、Ta-SiO<sub>2</sub> 発熱低抗体上にサイアロン耐摩耗保護層を設けた 500  $\mu\text{m}$  × 500  $\mu\text{m}$  の感熱ヘッドを 250  $\mu\text{m}$  間隔に並べた感熱プリンターで、感熱ヘッドは 20 msec 通電によって 450°C に達する加熱能力を持っており、走査速度を 40 msec/m に設定した。Contact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で測定した基板表面の接触加熱領域の水に対する接触角は、いずれも 7~9 度の間にあり、非加熱領域は、52~55 度であった。

【0098】この基板を用いて、実施例 1 と同じインクジェット方式で DNA チップを精度よく、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0099】〔実施例 6〕実施例 1 に記載の方法によって、石英ガラス板上に蒸着により厚さ 200 nm（2000 オングストローム）の酸化チタン薄膜を形成させた。空気恒温槽中にペルフルオロ酢酸入りの平皿を置き、温度を 90°C に保って空気恒温槽内の空気をペルフルオロ酢酸蒸気で飽和させた。次いでこの中に上記の酸化チタン薄膜付きのガラス板を挿入して 10 分間その温度に置いた後、ガラス板を取り出して DNA チップ用基板作成用の原板とした。この原板の Contact Angle Meter CA-D（協和界面科学（株）製）を用いて空中水滴法で測定した水に対する接触角は、88~93 度であった。この原板を用いたこと以外は実施例 1 と同じ操作によって DNA チップ用基板を作製した。基板表面の照射領域の水に対する接触角は、いずれも 7~9 度の間にあり、非照射領域は、上記した値と変わらず、88~93 度であった。

【0100】この基板を用いて、実施例 1 と同じインクジェット方式で DNA チップを精度よく、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0101】〔実施例 7〕実施例 1 に記載の方法による石英ガラス板上に蒸着により厚さ 200 nm（2000 オングストローム）の酸化チタン薄膜を形成させた原板を 1 規定硝酸銀水溶液に 5 秒間浸漬したのち、原板を引き上げて直ちにフェーリング溶液に 10 秒間浸漬した。原板を引き上げて再び硝酸銀水溶液とフェーリング溶液への浸漬を繰返した。フェーリング溶液としては、硫酸銅五水塩 69.2 g/L 水溶液と、酒石酸カリウムナトリウム 346 g/L と水酸化ナトリウム 100 g/L の混合水溶液とを使用直前に当量混合して調製したものをを用いた。原板表面には、銀微粒子が沈積したことが表面色の黒色化によって認められた。この銀微粒子 担持酸

25

化チタン薄膜付きのガラス板をDNAチップ用基板作成用の原板とした。この原板の Contact Angle Meter CA-D (協和界面科学 (株) 製) を用いて空中水滴法で測定した水に対する接触角は、48〜53度であった。この原板を用いたこと以外は実施例1と同じ操作によってDNAチップ用基板を作製した。基板表面の照射領域の水に対する接触角は、いずれも7〜9度の間にあり、非照射領域は、上記した値と変わらず、48〜53度であった。

【0102】この基板を用いて、実施例1と同じインクジェット方式でDNAチップを精度よく、迅速で簡単な操作で作製することが出来た。

【0103】

【発明の効果】以上説明したように原板上に活性光の照射又は熱の印加によって親水性のセル領域を施したDNAチップ用の基板を用いると、DNAプローブをセル領域にはり付ける際に、セル領域からのプローブの液にじみや混じり合いが無く、高精度のDNAチップを得率よく製造できる。また、基板の作製の際に原板に予め疎水性強化処理を施すことによって、複製の精度を一層向上させることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 各セル及びセル領域が配列したDNAチップ用基板を示す模式図である。

【図2】 本発明のDNAチップ用基板にインクジェッ

26

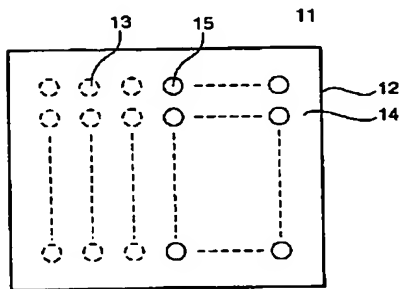
ト方式でDNAプローブをはり付ける過程を示す模式図である。

【図3】 本発明のインクジェット方式のDNAチップ作製装置の一形態を示す構成図である。

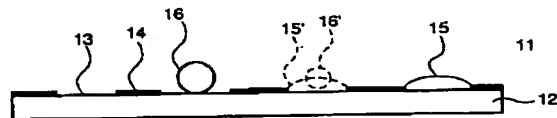
【符号の説明】

- 2 インクジェット式液滴吐出ヘッド
- 3 制御手段
- 4 駆動手段
- 10 DNAプローブ
- 11 DNAチップ用基板
- 12 原板
- 13 セル領域
- 14 疎水性領域(非セル領域)
- 15 セル
- 16 液滴
- 15' 形成過程のセル
- 16' 消滅過程の液滴
- 22 DNAプローブ貯留槽
- 23 パイプ
- 20 M1 モータ
- M2 モータ
- Sh 制御信号
- Sx 駆動信号
- Sy 駆動信号

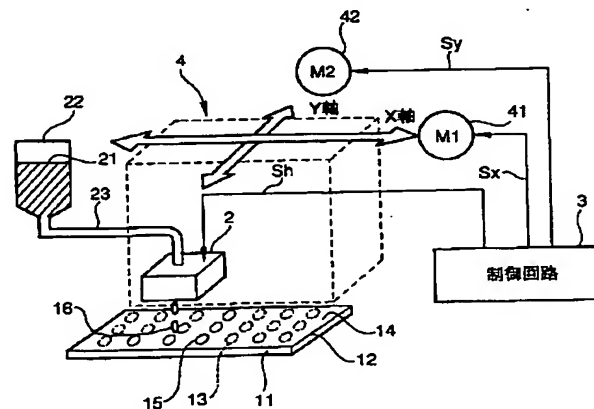
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G042 AA01 BD19 CB03 FB05 HA08  
4B024 AA11 AA20 CA09 HA12  
4B029 AA07 AA23 BB20 CC10 FA12  
GA03 GB04